



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DISEÑO DE EMULGEL Y PARCHE A BASE DEL EXTRACTO DE FRUTO DE  
LA *OPUNTIA FICUS INDICA* (TUNA) CON EFECTOS CICATRIZANTES**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**MARIA REBECA, MATA SERVÍN**



**CDMX**

**2024**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: ZURITA CRUZ AURORA ANAIS  
**VOCAL:** Profesor: BUSTAMANTE GARCÍA RUTH  
**SECRETARIO:** Profesor: VAZQUEZ MARTINEZ EDGAR RICARDO  
**1er. SUPLENTE:** Profesor: BORJA CALDERON LUZ ANTONIA  
**2° SUPLENTE:** Profesor: MORIMOTO MARTINEZ LIDYA SUMIKO

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: BIOTERIO, 5° PISO EDIFICIO A FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**DRA. RUTH BUSTAMANTE GARCÍA**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

---

**MVZ ATONATIU EDMUNDO GÓMEZ MARTÍNEZ**

**SUSTENTANTE:**

---

**MARÍA REBECA MATA SERVÍN**

## **AGRADECIMEINTOS**

Agradezco a la Dra. Ruth y al Doc. Atonatiu por todo su apoyo, por sus consejos y por escucharme durante esta etapa de mis estudios. Nunca me cansare de agradecer la suerte que tuve de conocerlos, fue un placer trabajar con ustedes, son unos excelentes profesores y maravillosas personas, espero podamos seguir coincidiendo por mucho tiempo más.

Gracias a todos mis amigos en el bioterio Adri, Rosy, Aranzita, Moni, Mimi, Bety, Diana, Pau, Millet, Lore, Clau, Aidé, Fer y Dani y a los trabajadores Don Gud, Andrés y señor Carlos que me recibieron con una sonrisa, gracias por su apoyo a los que me ayudaron durante mi proyecto y hacer mi estancia tan maravillosa en el bioterio.

Agradezco a la Dra. Angelica, a la Dra. Sandra y a Carmelita por abrirme las puertas de su laboratorio y por el apoyo para la realización de la técnica histológica de los tejidos, aprendí mucho durante mi estancia con ustedes.

Agradezco al Dr. Hugo Antonio Hernández Pérez por su apoyo para la realización de las pruebas microbiológicas.

Agradezco también al colegio de profesores de la Facultad de Química y a la sección 024 del AAPAUNAM por su apoyo para la realización de este trabajo.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

Abreviaturas y Símbolos .....	I
Índice de Figuras.....	II
Índice de Tablas.....	III
<b>I.INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II.ANTECEDENTES .....</b>	<b>3</b>
2.1 La Piel .....	3
2.2 Estructura de la piel .....	4
2.3 La Cicatrización de la piel .....	13
2.4 Opuntia ficus indica.....	17
<b>III.OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>IV.DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>21</b>
4.1 Materia prima vegetal.....	22
4.2 Obtención del extracto .....	22
4.3 Prueba de coagulación .....	23
4.4 Desarrollo de emulgel con el extracto de tuna .....	25
4.5 Desarrollo de parche con el extracto de tuna .....	27
4.6 Prueba de sensibilidad cutánea en conejos cepa Nueva Zelanda .....	31
4.7 Prueba de sensibilidad cutánea en humanos.....	33
4.8 Modelo de heridas inducidas en ratas Wistar.....	34
4.9 Histología de tejidos.....	37
4.10 Análisis estadístico.....	38
4.11 Referencias y presentación de Tablas y Figuras.....	38
<b>V.RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
<b>VI.DISCUSIÓN.....</b>	<b>50</b>
<b>VII.CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>VIII.PERSPECTIVAS.....</b>	<b>57</b>
<b>IX.REFERENCIAS.....</b>	<b>58</b>
<b>X.ANEXOS.....</b>	<b>62</b>

## Abreviaturas y Símbolos

<b>%</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>+</b>	<b>Más</b>
<b>±</b>	<b>Más menos</b>
<b>SSI</b>	<b>Solución salina isotónica</b>
<b>Vs.</b>	<b>Contra</b>
<b>ANADEVA</b>	<b>Análisis de Varianza</b>
<b>°C</b>	<b>Grados Celsius</b>
<b>FEUM</b>	<b>Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos</b>
<b>c.b.p.</b>	<b>Cuanto baste para</b>
<b>g</b>	<b>Gramo</b>
<b>Kg</b>	<b>Kilogramo</b>
<b>mL</b>	<b>Mililitro</b>
<b>TEA</b>	<b>Trietanolamina</b>
<b>h</b>	<b>Hora</b>
<b>min</b>	<b>Minuto</b>
<b>mg</b>	<b>Miligramo</b>
<b>MGA</b>	<b>Método general de análisis</b>
<b>OMA</b>	<b>Organismos Mesofílicos Aerobios</b>
<b>HL</b>	<b>Hongos Filamentosos y Levaduras</b>
<b>CT</b>	<b>Coliformes Totales</b>
<b>pH</b>	<b>Potencial de hidrógeno</b>
<b>rpm</b>	<b>Revoluciones por minuto</b>
<b>CICUAL</b>	<b>Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio</b>
<b>≤</b>	<b>Menor o igual que</b>
<b>&lt;</b>	<b>Menor que</b>
<b>cm</b>	<b>Centímetro</b>
<b>UFC</b>	<b>Unidad Formadora de Colonia</b>
<b>UI</b>	<b>Unidad Internacional</b>
<b>kcal</b>	<b>Kilocalorías</b>
<b>UV</b>	<b>Ultra violeta</b>

	Página
Índice de Figuras	4
<b>Figura 1. Funciones de la piel</b>	<b>5</b>
<b>Figura 2. Diferencias estructurales de la piel gruesa y la piel delgada</b>	<b>9</b>
<b>Figura 3. Esquema de las capas de la epidermis</b>	<b>10</b>
<b>Figura 4. Imagen histológica de la dermis</b>	<b>16</b>
<b>Figura 5. Proceso de cicatrización de la piel</b>	<b>18</b>
<b>Figura 6. <i>Opuntia ficus indica</i></b>	<b>21</b>
<b>Figura 7. Resumen de etapas y plan de trabajo del proyecto</b>	<b>23</b>
<b>Figura 8. Primera etapa del plan de trabajo: Obtención de extractos</b>	<b>24</b>
<b>Figura 9. Segunda etapa del plan de trabajo: Prueba de coagulación</b>	<b>30</b>
<b>Figura 10. Tercera etapa del plan de trabajo: Diseño de productos y caracterización</b>	<b>31</b>
<b>Figura 11. División de cuadrantes en conejos para prueba de sensibilidad como lo establece la FEUM 12ª edición.</b>	<b>33</b>
<b>Figura 12. Cuarta etapa del plan de trabajo: Prueba de sensibilidad cutánea en conejo Nueva Zelanda</b>	<b>34</b>
<b>Figura 13. Quinta etapa del plan de trabajo: Prueba de sensibilidad cutánea en humanos</b>	<b>35</b>
<b>Figura 14. Distribución de cuadrantes para prueba de cicatrización en ratas</b>	<b>36</b>
<b>Figura 15. Sexta etapa del plan de trabajo: Modelo de heridas inducidas en ratas Wistar</b>	<b>37</b>
<b>Figura 16. Séptima etapa del plan de trabajo: Histología de tejidos</b>	<b>39</b>
<b>Figura 17. Tiempo de coagulación para cada extracto obtenido en la prueba de coagulación.</b>	<b>40</b>
<b>Figura 18. Tiempo de coagulación en función de la concentración de los extractos I, II y III.</b>	<b>44</b>
<b>Figura 19. Resultados de la prueba de sensibilidad cutánea en conejo</b>	<b>45</b>
<b>Figura 20. Resultados de la prueba de sensibilidad cutánea en humanos</b>	<b>46</b>
<b>Figura 21. Tinciones H&amp;E de piel de rata (cepa Wistar) modelo de heridas inducidas para emulgel y parche de extracto de tuna.</b>	<b>66</b>
<b>Figura 22. Reacción de irritación cutánea durante el modelo de heridas inducidas en ratas Wistar</b>	

Índice de Tablas	Pagina
<b>Tabla 1. Valor nutricional en 1 fruta de tuna (porción comestible 103g)</b>	<b>19</b>
<b>Tabla 2. Excipientes utilizados en la formulación del emulgel base</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 3. Valores de referencia que debe cumplir el emulgel de acuerdo a la FEUM 12ª Edición.</b>	<b>27</b>
<b>Tabla 4. Excipientes utilizados en la formulación del parche base</b>	<b>27</b>
<b>Tabla 5. Valores de referencia que debe cumplir el parche de acuerdo a la FEUM 12ª Edición.</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 6. Evaluación de la reacción de irritación en piel</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 7. Resultados de las pruebas organolépticas y fisicoquímicas de emulgel I, II y III.</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 8. Resultados de las pruebas organolépticas y fisicoquímicas para el parche I, II y III.</b>	<b>43</b>
<b>Tabla 9. Comparación macroscópica de la evolución de la cicatrización en el modelo inducido de heridas en taras cepa Wistar</b>	<b>49</b>
<b>Tabla 10. Interpretación de resultados en la prueba de sensibilidad cutánea</b>	<b>65</b>



## INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, mantiene separado lo que se encuentra al interior del exterior y su función principal es la protección del organismo (Valencia et al., 2016), esto ocasiona que la piel se exponga a lesiones constantes ocasionadas por agentes externos, por lo que es de gran importancia elaborar productos que ayuden a su protección y regeneración. Los dispositivos médicos utilizados para el tratamiento y curación de lesiones incluyen apósitos como el parche de gelatina y sustancias como el emulgel.

La piel tiene un proceso de cicatrización que regenera las lesiones producidas, esta se da en 4 fases que no están completamente delimitadas y de manera simultánea; en la primera fase que es la hemostasia, ocurre la activación de la cascada de coagulación para formar un coágulo de fibrina. Durante la etapa de inflamación se activa la respuesta inmunológica participando polimorfonucleares, macrófagos y linfocitos que mantendrán limpia la zona y libre de infecciones, en la tercer etapa se estimula la llegada de fibroblastos y queratinocitos, estos comenzarán la regeneración de la matriz extracelular provisional y se dará lugar a la angiogénesis para que en la última etapa de regeneración o maduración se produzca la red de colágeno-elastina para la formación de la cicatriz definitiva o regeneración del tejido (Enciso et al., 2021; Quispe & Blacido, 2018). Los productos cicatrizantes aceleran este proceso e inclusive mejoran la apariencia de las cicatrices. Entre los compuestos destacados con efectos cicatrizantes están los compuestos polifenólicos (taninos y flavonoides) que se encuentran en una gran variedad de plantas como en el fruto de la *Opuntia ficus indica* (tuna) (Enciso et al., 2021), por lo que el extracto de tuna puede presentar efectos cicatrizantes, siendo de suma importancia debido a que aún no se ha estudiado esta propiedad de la tuna. En la actualidad existen numerosos productos

con acción cicatrizante en el mercado, pero depende de las características de la herida, la zona en la que se encuentra, el paciente al que se debe tratar, entre otros aspectos, la elección del tratamiento más adecuado en cada caso. Según la Secretaría de Salud en la práctica clínica, los apósitos bioactivos son dispositivos médicos de primera elección para el tratamiento local de heridas crónicas, como lo son úlceras por presión, úlceras de pie diabético, quemaduras, úlceras neoplásicas, etc. En 2018, dada la situación epidemiológica de las heridas crónicas, resulta de suma importancia promover el uso de terapia avanzada, para lo cual se requiere el tener a disposición más opciones terapéuticas que se adapten a las necesidades de cada paciente según la Secretaría de Salud Federal. Los parches de gelatina son apósitos bioactivos, pueden ser semioclusivos u oclusivos y están indicados en quemaduras de tipo A sin infección, pie diabético en grados 0, I y II sin infección; protección y favorecimiento de la granulación y epitelización en heridas y úlceras de tipos 1, 2 y 3 sin infección; zonas donantes de injerto y desbridamiento autolítico en heridas de tipos 2 y 3 (Benedí & Romero, 2016). Los emulgeles representan una buena alternativa para sustancias de aplicación tópica, debido a que son bien tolerados por las personas, humectan la piel y son de fácil lavado. Por lo que en este proyecto se evaluó si el extracto de tuna posee efectos cicatrizantes de acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de coagulación, además se ofrecieron dos opciones de elección para su aplicación, ya que se formuló un emulgel y un parche con los extractos obtenidos, sometiéndolos a pruebas fisicoquímicas y organolépticas que aseguraron su calidad. Y finalmente se evaluaron para determinar su eficacia y seguridad, por lo que se utilizaron tres modelos para dicho fin; el modelo de sensibilidad cutánea en conejo cepa Nueva Zelanda y en humanos de acuerdo a la FEUM 12ª edición y el modelo de cicatrización en rata cepa Wistar.

## **ANTECEDENTES**

### **2.1 La Piel**

La piel es considerada el órgano más grande del cuerpo humano, se estima que comprende el 16% del peso total de una persona. Es una barrera que protege el cuerpo de los estímulos del exterior como patógenos, rayos UV, partículas y agentes químicos entre otros, además tiene funciones metabólicas que ayudan a mantener la homeostasis. Mientras que al mismo tiempo mantiene los órganos blandos y demás componentes del cuerpo humano en su sitio y evita su pérdida o exposición. La piel desempeña varias funciones además de la protección contra agentes externos como: regulación de la temperatura corporal, contiene glándulas sudoríparas, recepción de estímulos del ambiente exterior como la temperatura, el dolor y el tacto, y finalmente la absorción de rayos UV provenientes del sol para la síntesis de vitamina D. (Gartner & Hiatt, 2008) (Figura 1). Es tan importante que incluso puede dar información de la salud física y mental de las personas. Para la dermatología la condición de la piel, el pelo y las uñas puede dar indicios de los padecimientos que presenta el individuo e incluso de sus emociones, por ejemplo, cuando la caída de cabello en exceso se presenta en un periodo de estrés, o incluso cuando las mejillas se ruborizan si sentimos vergüenza o simplemente si estamos acalorados (Fernández et al., 2013).



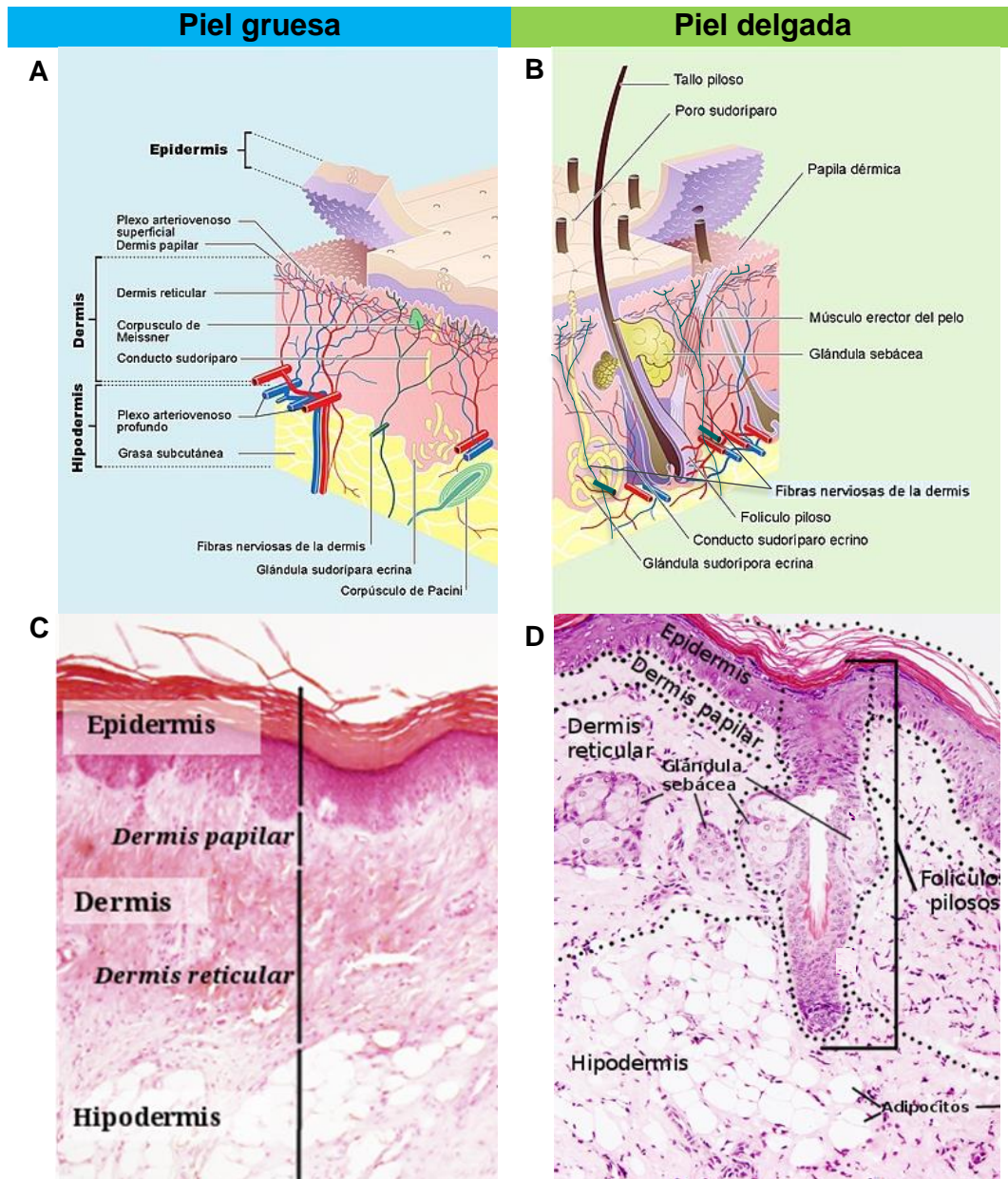
**Figura 1. Funciones de la piel**

Fuente: Dra. Patricia Carmona, 2020

## 2.2 Estructura de la piel

La piel se compone de tres capas: la epidermis, la dermis y la hipodermis. Estas capas se interrelacionan entre sí lo que les permite una continua comunicación entre el exterior y el interior. Cada capa tiene una estructura específica debido a que desempeñan funciones diferentes y que se describen más adelante.

En el cuerpo existen dos tipos de piel: la piel delgada y la piel gruesa (Figura 2), que cumplen funciones diferentes, por ejemplo, en las palmas de los pies y manos se encuentra la piel gruesa que tiene una epidermis más gruesa para cumplir su función de protección debido a la gran fricción que reciben estas partes del cuerpo, además carece de crecimiento de pelo y glándulas sebáceas pero posee glándulas sudoríparas, mientras que el resto del cuerpo se encuentra recubierto por la piel delgada que está constituida por una epidermis más delgada, posee un mayor número de terminaciones nerviosas y en ella se observa folículos pilosos, músculos erectores de pelo, glándulas sebáceas y sudoríparas (Buendía et al., 2018).



**Figura 2.** Diferencias estructurales de la piel gruesa y la piel delgada

*Nota.* En A y B se muestran esquemas de la estructura de la piel gruesa y piel delgada; en C y D se muestran micrografías de tinción H&E de cortes de piel gruesa y piel delgada. Se observan las 3 capas de la piel epidermis, dermis e hipodermis y sus diferencias morfológicas en cada una de ellas.

Fuente: Madhero88 and M. Komorniczak, CC BY-SA 3.0, vía Wikimedia Commons & Atlas de histología vegetal y animal.

- *La epidermis*

La epidermis es la capa externa de la piel, es la que se encuentra en contacto con el exterior y está formada por epitelio escamoso estratificado queratinizado, que se conforma por queratinocitos, células de Merkel, células de Langerhans y melanocitos. Los queratinocitos que conforman del 80%-90% de la epidermis van ascendiendo desde el estrato basal o germinativo formando a su paso por la citomorfosis los estratos espinoso, granuloso, lúcido y finalmente el estrato corneo en la superficie (Buendía et al. 2018; Gartner & Hiatt, 2008). A continuación, se describen los estratos desde el exterior hacia el interior de la epidermis.

- Estrato corneo. La capa cornea está formada por células aplanadas queratinizadas muertas, escamosas o corneas (corneocitos), que se reemplazan constantemente. Estas células se mantienen unidas gracias a la presencia de corneodesmosomas, en tanto que en la parte más superficial los corneocitos pierden sus desmosomas y se descaman. En el espacio intercorneocítico se encuentran lípidos en forma de hojas laminares lo que establece una barrera hidrófoba. La función de esta capa es de “barrera hídrica” que es de vital importancia para proteger de patógenos, pero también para mantener el equilibrio entre los fluidos del interior y el exterior (Gartner & Hiatt, 2008).
- Estrato lúcido. Este estrato solo se observa en la piel gruesa, está formada por células eosinófilas aparentemente sin núcleos ni límites en las que el proceso de queratinización está avanzado. Junto con la capa granulosa forman el estrato precórneo (Buendía et al. 2018).

- Estrato granuloso. Está formado por 2-3 hileras de células aplanadas granulosas que aún conservan su núcleo, se caracterizan por la presencia en su citoplasma de gránulos basófilos (granos de queratohialina). En el citoplasma de éstas existen los cuerpos de Odland que se adhieren a la membrana y vuelcan su contenido al espacio intercorneocitario de la capa córnea. Este proceso se vuelve especialmente masivo en la transformación de los queratinocitos granulosos más superficiales en corneocitos: los queratinocitos cornificados. El contenido de los cuerpos de Odland es rico en proteínas y lípidos lo que produce una barrera impermeable que impide que las células superficiales se bañen en el líquido extracelular rico en nutrientes y, en consecuencia, acelera su muerte. Los queratinocitos del estrato granular finalmente mueren en un proceso denominado cornificación (Hafttek, 2011).
- Estrato espinoso. Esta capa es la más gruesa de la epidermis, está formada por células poliédricas de tamaño mayor que los queratinocitos basales y ligeramente más aplanadas, se unen entre sí mediante numerosos desmosomas, lo que les confiere un aspecto espinoso. Existen queratinocitos en este estrato que tienen actividad mitótica al igual que los de el estrato basal por lo que en conjunto estos estratos son denominados capa de Malpighi y tienen a su cargo la renovación de los queratinocitos en la epidermis. Los queratinocitos de la capa espinosa presentan, en su citoplasma, haces de tonofilamentos de queratina mejor organizados y más numerosos. También se encuentran células dendríticas conocidas como células de Langerhans por el sitio anatómico donde se localizan (la piel), la característica más singular de estas células es la presencia de gránulos de Birbeck que se forman como resultado de la endocitosis asistida por clatrina. Las células de Langerhans son

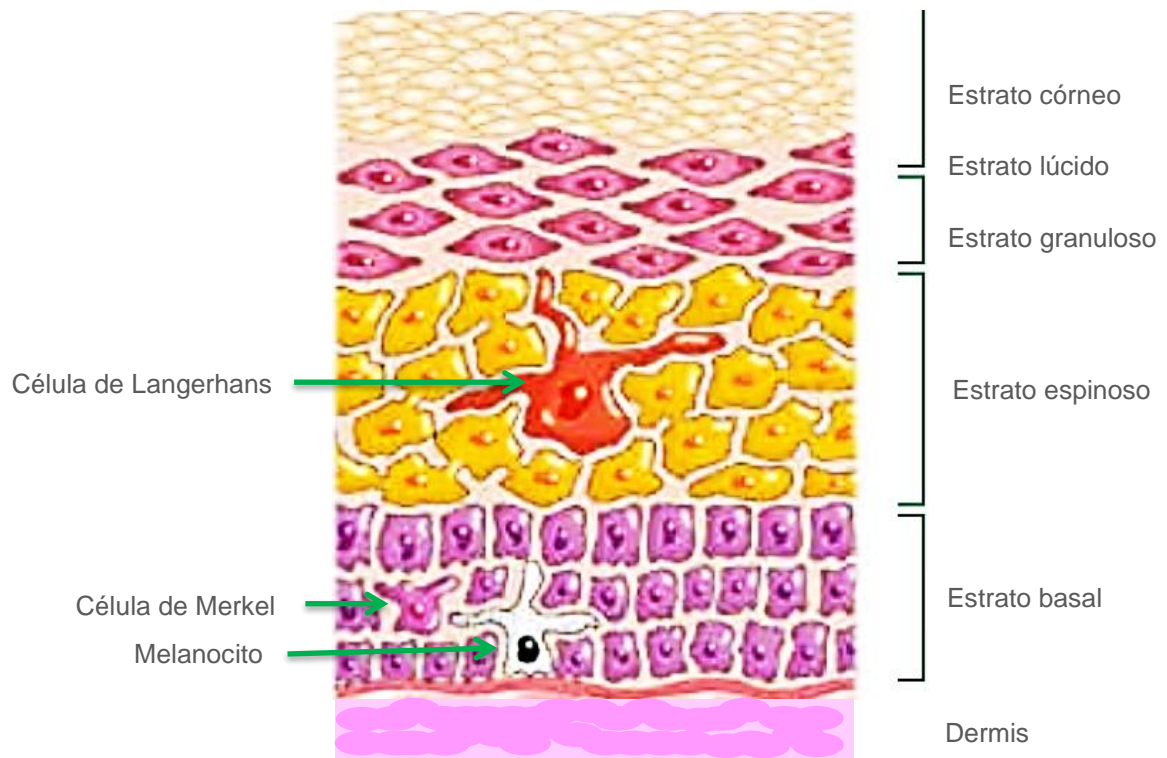
células presentadoras de antígeno que llegan a la epidermis a través del torrente sanguíneo y que desempeñan el papel de protección frente a agentes externos (Gartner & Hiatt, 2008).

- Estrato basal o germinativo. Está constituido por queratinocitos basales que son células cilíndricas o cúbicas con actividad mitótica o también llamadas células madre epiteliales que se asientan sobre la membrana basal o unión dermoepidérmica. Esta capa es la que se encarga en gran parte de la renovación de las células en el epitelio. También se encuentran dispersas entre los queratinocitos del estrato basal, las células de Merkel, que provienen de la cresta neural y se unen a los queratinocitos por desmosomas. En el estrato basal se forman complejos de axones y células de Merkel que funcionan como mecanorreceptores, además se sugiere que poseen actividad relacionada con el sistema neuroendocrino difuso (Gartner & Hiatt, 2008).

Finalmente, en este estrato se encuentran los melanocitos, son células redondas a cilíndricas con prolongaciones largas y ondulantes (dendritas) que se extienden hasta el espacio intercelular del estrato espinoso (Figura 3). Estas células sintetizan la enzima tirosinasa que se empaqueta en gránulos ovoides conocidos como melanosomas, donde se va a transportar la tirosina y va a ser convertida en melanina por esta enzima, que además se activa con la luz ultravioleta. Los melanosomas salen del citoplasma de los melanocitos a través de sus dendritas mediante un proceso denominado secreción citocrina hasta los queratinocitos. Cada melanocito sirve a varios queratinocitos, entre 6-7, constituyendo así una unidad de melanina epidérmica. Los melanosomas se ubican en la región superficial de los queratinocitos, protegiendo al núcleo de los rayos ultravioleta del sol, degradándose por la actividad lisosomal de los



queratinocitos y liberando la melanina que además de dar color a la piel va a proteger contra los rayos ultravioleta (Gartner & Hiatt, 2008).



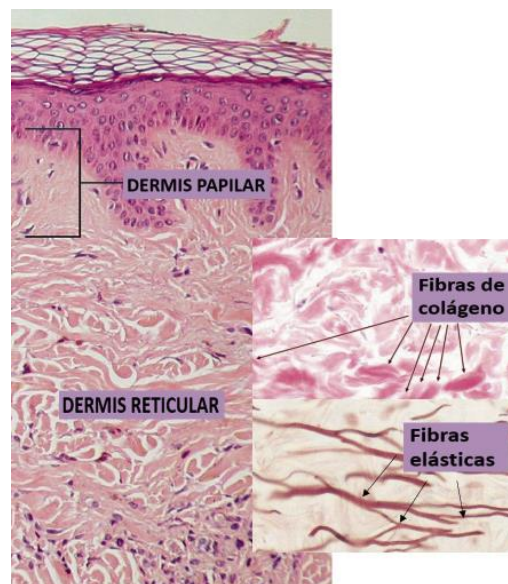
**Figura 3.** Esquema de las capas de la epidermis

Fuente: Buendía et al., 2018

La interfaz entre la dermis y la epidermis tiene un contorno muy irregular con abundantes invaginaciones digitiformes de la dermis llamadas papilas dérmicas. Las papilas se complementan con lo que parecen proyecciones similares de la epidermis, llamadas crestas epidérmicas, que se hunden en la dermis (Galliano, 2015). Estas interdigitaciones de la dermis y la epidermis se conocen como aparato reticular. Son evidentes en la superficie de la piel sobre todo en las palmas de las manos y la planta de los pies donde se observan como arcos, remolinos y asas (huellas digitales).

- *La dermis*

La dermis es la capa que se sitúa debajo de la epidermis, está constituida de tejido conjuntivo colagenoso denso e irregular, se divide en dos capas: la superficial o capa papilar laxa y la capa profunda o reticular, que es más densa (Gartner & Hiatt, 2008) (Figura 4).



**Figura 4.** *Imagen histológica de la dermis*

*Nota.* Se observan las dos capas papilar y reticular, además de las fibras de colágeno y elastina que forman la matriz extracelular en la dermis.

Fuente: García & Alonso, 2021

- Capa superficial o papilar. Está situada justo debajo de la epidermis y forma las papilas dérmicas, pero está separada de la epidermis por la membrana basal. Está formada por tejido conjuntivo laxo con abundantes capilares implicados en la nutrición de las células de la epidermis, que no está vascularizada. Estos vasos sanguíneos también participan en la regulación de

la temperatura corporal mediante el proceso de vasodilatación o vasoconstricción (Gartner & Hiatt, 2008).

En algunas papilas dérmicas se encuentran los corpúsculos de Meissner en forma de pera, que son mecanorreceptores, los cuales están especializados en responder a las deformaciones ligeras de la epidermis. Estos receptores son más abundantes en las zonas más sensibles a la estimulación táctil como en labios, genitales externos y pezones. También se encuentra el termorreceptor bulbo terminal de Krause que responde al frío (García & Alonso, 2021).

La capa papilar se conforma de fibras de colágeno tipo III y fibras elásticas en redes laxas. El colágeno tipo VII conforma fibrillas de fijación que une la epidermis con la dermis (Galliano, 2015).

Además, hay presencia de fibroblastos, que son células con forma fusiforme o estrellada y que se diferencian a fibrocitos encargados de producir las fibras que componen la matriz extracelular como colágeno, elastina y proteoglucanos. Histiocitos que son macrófagos que se encargan de la fagocitosis en la dermis, y mastocitos que debido a su liberación de precursores proinflamatorios intervienen en el proceso de inflamación crónico y agudo, debido a sus gránulos ricos en histamina, serotonina, triptasa y quimotriptasa. Y, por último, adipocitos dérmicos implicados en la curación de heridas, regeneración del folículo pilosos y depósito de energía (Buendía et al., 2018).

- Capa profunda o reticular. Esta capa es más gruesa que la papilar, se compone de fibras de tejido conjuntivo denso rico en fibras de colágeno tipo I entrelazadas con fibras elásticas gruesas. Las células en esta capa son más

escasas, pero se encuentran fibroblastos, células cebadas, macrófagos, linfocitos y en la parte más profunda células adiposas. Contiene estructuras derivadas de la epidermis como folículos pilosos, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas.

También se pueden encontrar fibras de músculo liso en sitios en particular, por ejemplo, los músculos erectores de pelo son los responsables de la erección de los pelos, los músculos de la expresión facial en la cara y cuello cabelludo ayudan a las expresiones en el rostro. Se encuentran además elementos en la dermis reticular como nervios y vasos sanguíneos. Finalmente encontramos mecanorreceptores como los corpúsculos de Pacini que responden a estímulos de presión y vibración y los corpúsculos de Ruffini de manera muy abundante en las plantas de los pies, que responden a fuerzas de tensión (Gartner & Hiatt, 2008).

- *La hipodermis*

La hipodermis es la capa más profunda y su grosor y textura depende de la zona del cuerpo. Es un tejido conjuntivo laxo que le da sustento a la piel y tiene cantidades variables de grasa que es almacenada en los adipocitos. Aunque no es parte de la piel, sino que constituye la fascia superficial que recubre todo el cuerpo (Gartner & Hiatt, 2008).

## 2.3 La Cicatrización de la piel

La cicatrización de la piel es un proceso complejo, que se activa durante una lesión. La piel se expone a lesiones constantes que alteran su funcionamiento y su integridad por lo que la cicatrización ayuda a su regeneración. Las cicatrices se forman cuando la epidermis sufre un corte que alcance a dañar la dermis, debido a que el cuerpo no puede reemplazar el tejido altamente especializado de la piel (Arenas, 2003). Este proceso se divide en 4 fases que se superponen en el tiempo y se da inicio a una sucesión de eventos, la hemostasia, la inflamación (algunos autores describen estas dos etapas como una sola), la proliferación y la maduración (Enciso et al., 2021).

- La *hemostasia*

Su objetivo es evitar la pérdida de fluido sanguíneo por lo que se produce una vasoconstricción con el fin de detener la hemorragia (Guarín et al., 2013). Inmediatamente después de la lesión queda expuesto el componente vascular subendotelial lo que promueve la activación de la coagulación por la vía extrínseca. Se da comienzo a la unión de plaquetas y liberación del factor Von Williebrand por el endotelio que ayudara a la unión de las plaquetas con las fibras de colágeno. Estos dos factores activan la vía intrínseca de la coagulación y así ambas vías promueven la formación del coágulo de fibrina. Las plaquetas activas liberan trombospondina y fibronectina, mientras que en la red de fibrina-fibronectina en el coágulo se liberan citocinas, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDFG) y el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) que en conjunto serán los responsables de la migración de células del sistema inmunológico como macrófagos y polimorfonucleares, células dérmicas (fibroblasto) y epidérmicas (queratinocitos) en la zona de la herida (Senet, 2007).

- *La inflamación*

En esta etapa se ha dado lugar a una vasodilatación que ayuda a la migración de células provenientes del sistema inmunológico como neutrófilos y macrófagos que comenzarán a fagocitar patógenos y proteínas para dar lugar a la limpieza de la herida y evitar infecciones. La presencia de bacterias y toxinas promueven la liberación de IL-1 por los macrófagos y a su vez se promueve la liberación de IL-8 que produce un aumento en la migración de neutrófilos y por consiguiente más fagocitosis y más destrucción tisular (Ramírez, 2010). Los macrófagos se unen a la matriz extracelular donde sufren un cambio fenotípico para dejar su función fagocítica y comportarse como células regeneradoras. Estos macrófagos liberan citocinas como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  [TNF- $\alpha$ ] y de factores de crecimiento como el factor de crecimiento de tipo insulina 1 (IGF-1), el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) y PDGF que estimulan la proliferación de fibroblastos, también estimulan la síntesis de óxido nítrico (NO) que tiene actividad inmunomoduladora y promueve la proliferación y migración de queratinocitos (Senet, 2007).

- *La proliferación*

Durante esta etapa se da lugar a la angiogénesis y la formación del tejido de granulación, debida a los fibroblastos que comienzan a migrar a la zona de la herida. Como ya se mencionó anteriormente, el papel que juegan los macrófagos es muy importante para el inicio de esta etapa, de tal forma que una vez que cambian de fenotipo para dar lugar a células regenerativas se inicia la etapa de proliferación. Los fibroblastos segregan factores angiogénicos, como el PDGF, IL-8, el factor de crecimiento del endotelio (VEGF) generando un ambiente idóneo para esta nueva formación capilar mientras que al mismo tiempo forma una matriz provisional de

colágeno I, II y sobre todo tipo III y proteoglucanos (Lucha, 2008). Esta intensa angiogénesis produce una coloración rojiza en el tejido granulado. La matriz extracelular que se está formando también participa regulando y limitando la proliferación de fibroblastos (Senet, 2007).

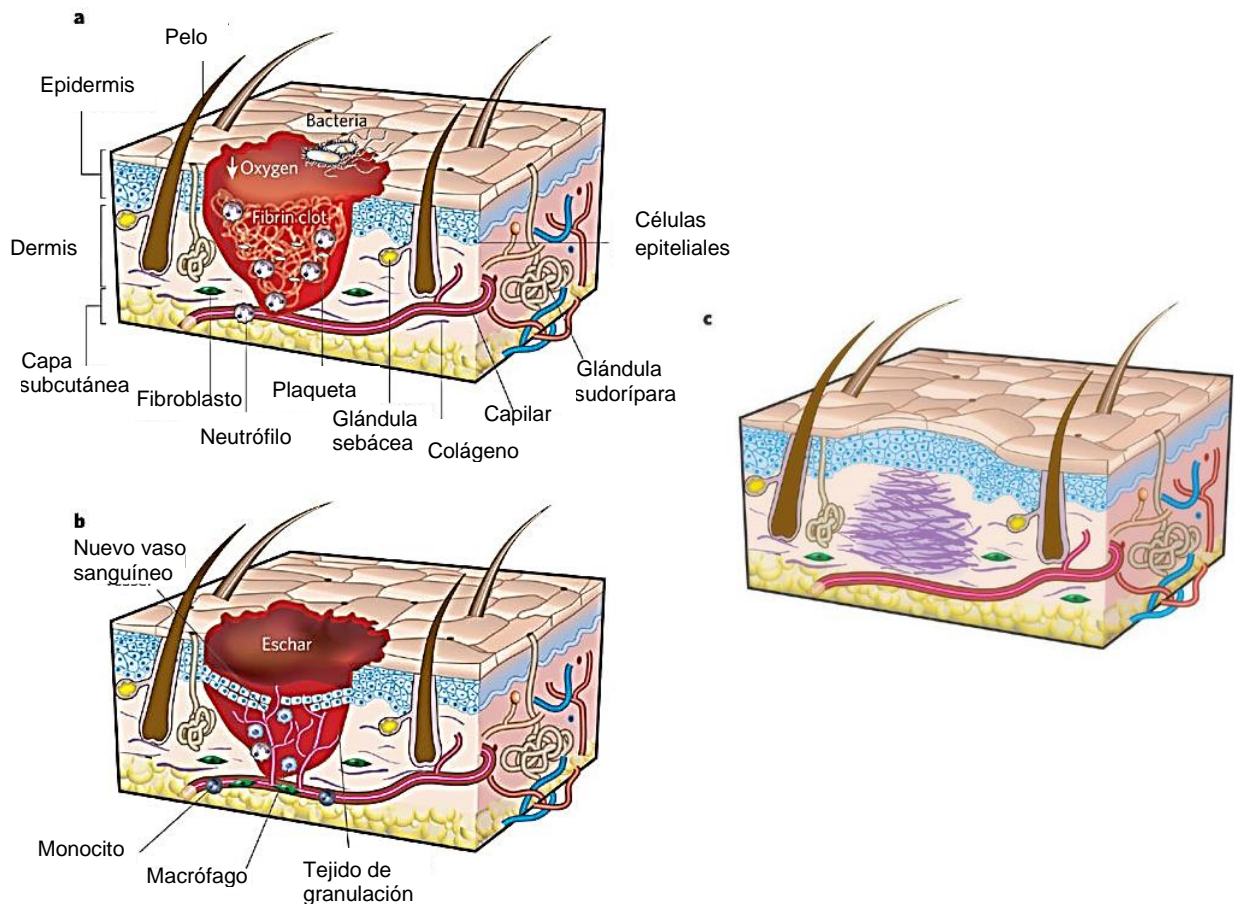
La liberación de TGF- $\beta$  promueve la diferenciación de fibroblastos para iniciar la producción de colágeno tipo IV y VII además de elastina que sustituyen la matriz provisional por una matriz extracelular madura y más elástica. Algunos fibroblastos cambian su fenotipo a miofibroblastos que actúan como músculo liso y tienen la capacidad de contraerse, de esta manera la herida se contrae para que los bordes se acerquen entre sí y dar lugar a la epitelización (Ramírez, 2010).

La epitelización se realiza gracias a la migración de los queratinocitos desde los bordes de la lesión, cambiando su fenotipo para eliminar su capacidad de adhesión a la membrana basal, entre sí y a la dermis subyacente para que le permita migrar sobre la matriz que es rica en fibronectina. Se depositan en la superficie de la matriz rica en colágeno IV y VII que son activadores de la migración. El proceso de proliferación tiene lugar al mismo tiempo, gracias a la liberación de TGF- $\beta$  convierte los queratinocitos migrantes en células basales dando inicio a la proliferación y diferenciación para la formación de la epidermis (Ramírez, 2010).

- *La maduración*

La maduración de la matriz extracelular tiene lugar una vez que la herida está cerrada por completo, durante esta etapa se degradan los vasos sanguíneos que son reabsorbidos por los macrófagos. El colágeno tipo III es degradado por enzimas metaloproteasas y es sustituido por colágeno tipo I que es más grueso y resistente además de fibras elásticas y glucosaminoglucanos para alcanzar al final de este

proceso una resistencia del 80-90%. El tejido cicatrizal es un tejido poco vascularizado, sin pelo, sin glándulas sebáceas ni sudoríparas (Fernández & García, 2008).



**Figura 5.** Proceso de cicatrización de la piel

*Nota.* En a se observa la fase de hemostasia e inflamación, la presencia de plaquetas dará inicio a la formación del coágulo de fibrina y la llegada de macrófagos y neutrófilos que realizarán la limpieza de la herida. En b se observa la fase de proliferación, donde hay formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) y de tejido de granulación. En c se observa la epitelización y regeneración completa del tejido para dar lugar a la maduración que consiste en la sustitución de colágeno tipo III por colágeno de tipo I.

Fuente: Junta de castilla y león. <https://lc.cx/OmVF3i> [Consultado:10/oct/23]



## 2.4 *Opuntia ficus indica*

La tuna pertenece a la familia de las Cactáceas. En México se denomina nopal al tronco y tuna al fruto. Es originaria de América desde donde fue diseminada a Europa, África y Australia. Los principales países productores de tuna en América son: México y Chile (Reyes & Lavín, s.f.).

**Nombre Científico:** *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

**Nombre Común:** Nopal de castilla, Tuna de castilla, Tuna mansa

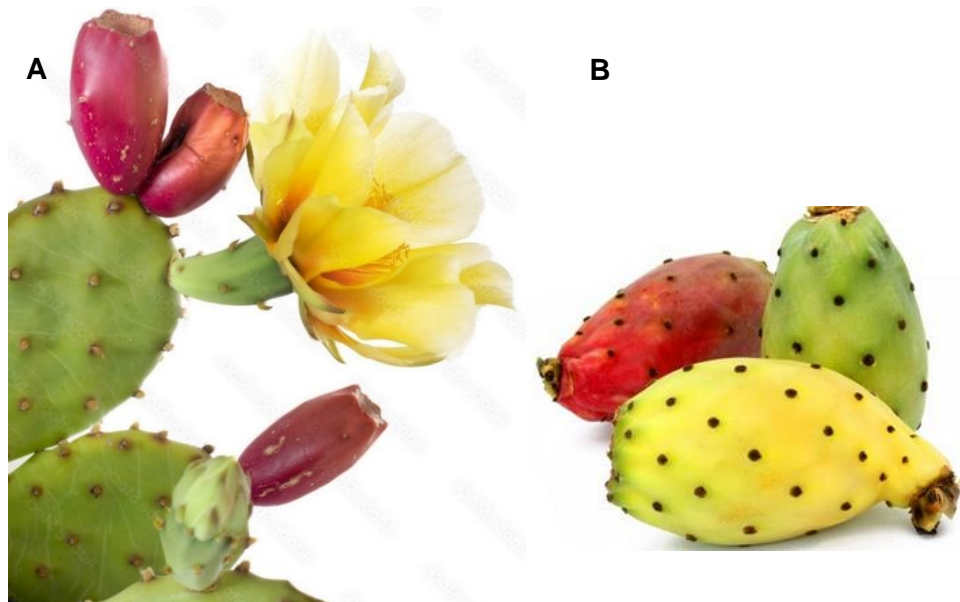
**Distribución u origen:** Posiblemente sea originaria de México.

**Usos:** Sus frutos y pencas son comestibles.

### **Descripción:**

- Plantas arborescentes de hasta 5 m de altura. Tallo leñoso.
- Cladodios oblongos hasta largamente obovados, 30 a 60 cm de largo, 20 a 40 cm de ancho, 1.9 a 2.8 cm de grueso, verdes opacos (Figura 6A).  
Aréolas separadas entre sí de 2 a 5 cm, pequeñas, angostamente elípticas, 2 a 4.5 cm de largo, 3 mm de ancho.  
Espinass casi siempre ausentes; gloquidios numerosos, amarillos, caducos.
- Flores 7 a 10 cm de diámetro, 6 a 8 cm de largo; segmentos exteriores del perianto ovados a ampliamente cuneados, obovados, agudos hasta truncados, enteros, mucronados o denticulados, amarillos, región media rojiza o verdosa; segmentos interiores del perianto angostamente obovados a cuneados, truncados hasta redondeados, enteros, mucronados o denticulados, amarillos a anaranjados.
- Frutos ovados, 5 a 10 cm de largo, 4 a 8 cm de diámetro, verdes, amarillos, anaranjados, rojos o púrpuras (Figura 6B).

**Fuente:** Facultad de Ciencias, UNAM. <https://goo.su/T1Yz9> [Consultado:10/oct/23]



**Figura 6.** *Opuntia ficus indica*

*Nota.* A. Se observan el tallo de la planta (nopal), la flor y el fruto de color morado (tuna). B. Se observa la tuna amarilla, blanca y roja.

Fuente: Adobe stock & Yanuq

La *Opuntia ficus indica* es comercializada en México como fuente de alimento, tanto el tronco (nopal) como la fruta (tuna) son consumidos en una gran variedad de platillos y preparados en nuestro país y es considerada como una rica fuente de nutrientes y compuestos antioxidantes que ayudan a la prevención de enfermedades degenerativas como cáncer, diabetes, arterosclerosis, enfermedades cardiovasculares y gástricas (El-Sayed et al., 2014)

El contenido nutricional de la tuna se muestra a continuación en la tabla 1.

**Tabla1.** *Valor nutricional en la fruta de tuna (porción comestible 103g)*

<b>Compuesto</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Cantidad</b>
<b>Energía</b>	42.2 kcal	<b>Agua</b>	85 %
<b>Proteína</b>	0.75 g	<b>Vitamina C</b>	8 mg
<b>Grasa total</b>	0.50 g	<b>Hierro</b>	1.6 mg
<b>Carbohidratos</b>	9.80 g	<b>Magnesio</b>	87.6 g
<b>Fibra</b>	3.71 g	<b>Potasio</b>	220 mg
<b>Vitamina A</b>	43,000 UI	<b>Selenio</b>	0.006 mg
<b>Calcio</b>	93 mg	<b>Sodio</b>	6.8 mg

Fuente: Datos tomados de Maurer, s.f.

La tuna también es rica en compuestos polifenólicos como taninos y flavonoides, además contiene los alcaloides del indol, betanina y los isómeros iso y neobetanina en los frutos rojos-morados, mientras que en los frutos amarillo-naranja se presenta indicaxantina y opuntiaxantina (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009) (Butera et al., 2002). La cantidad de los nutrimentos en la tuna está influenciada por diversos factores físicos, químicos y biológicos, tales como la variedad, especie, estado de madurez, factores precosecha y postcosecha (Sumaya et al., 2010).

## OBJETIVOS

Objetivo general.

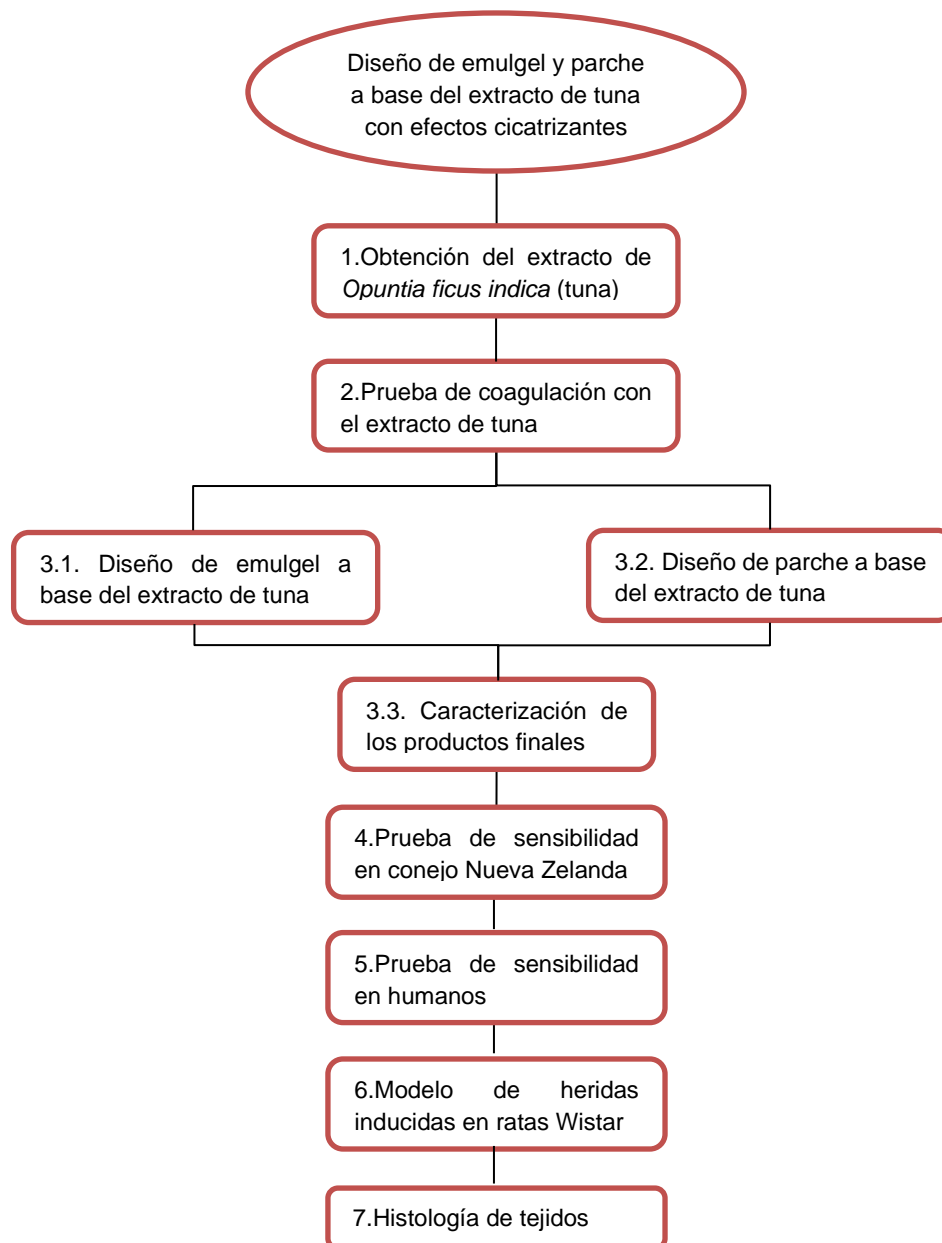
Elaborar un emulgel y un parche de gelatina a base del extracto del fruto de la *Opuntia ficus indica* (tuna) y demostrar su posible efecto cicatrizante.

Objetivos particulares.

- Obtener el extracto de tuna.
- Realizar la prueba de coagulación con el extracto de tuna.
- Diseñar y preparar un emulgel con el extracto de tuna.
- Diseñar y elaborar un parche con el extracto de tuna.
- Evaluar la formulación del emulgel y parche realizando pruebas fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas.
- Realizar la prueba de sensibilidad cutánea en conejos cepa Nueva Zelanda.
- Realizar la prueba de sensibilidad cutánea en humanos.
- Evaluar el efecto cicatrizante del extracto de tuna con el modelo de heridas inducidas en ratas de la cepa Wistar.

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

En la Figura 7 que aparece a continuación se muestran el plan de trabajo y las etapas en las que se llevó a cabo este proyecto.



**Figura 7.** Resumen de etapas y plan de trabajo del proyecto

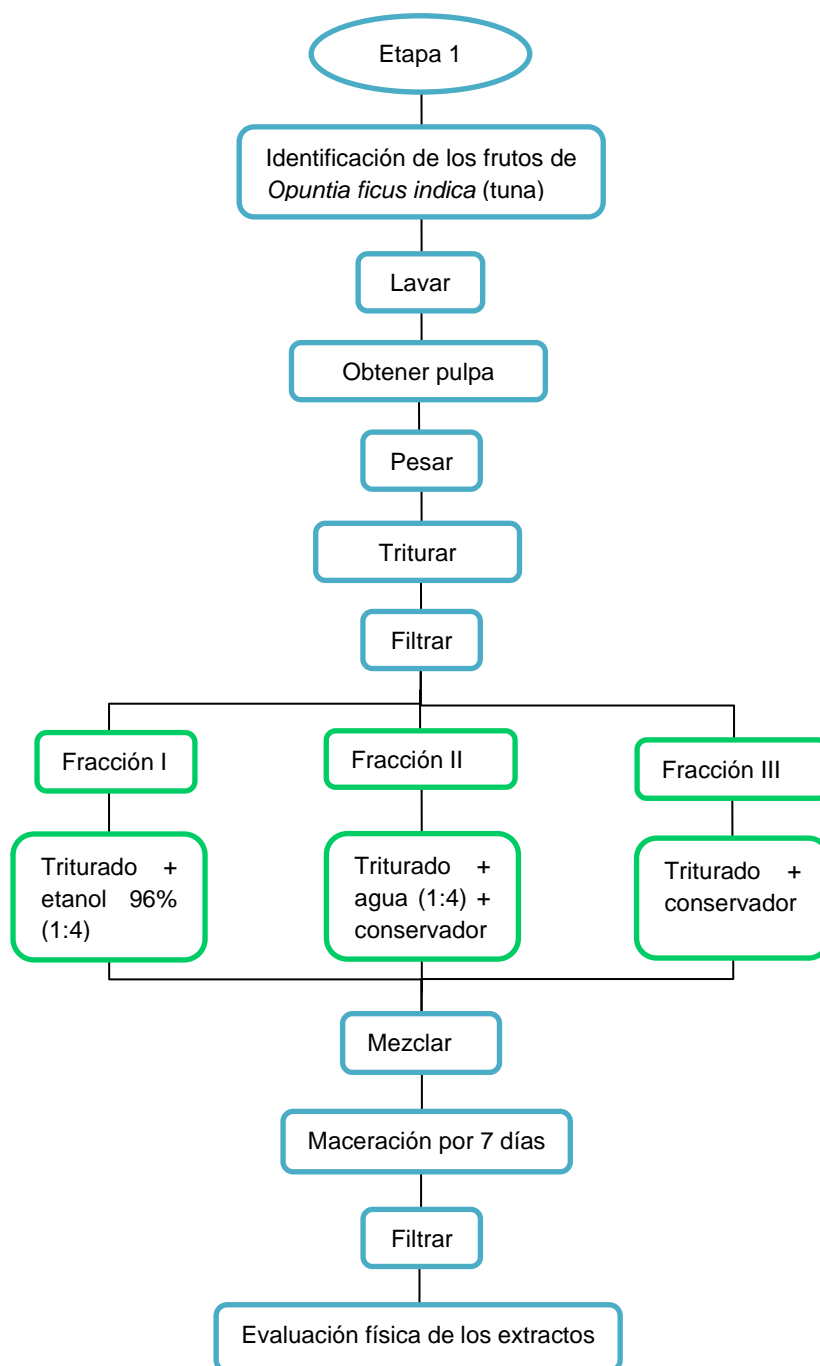
#### **4.1 Materia prima vegetal**

Se utilizaron 3 frutos pertenecientes a la especie *Opuntia ficus indica* identificados por la Dra. Teresa Neri, bióloga egresada de la UNAM.

Estos frutos se lavaron y se les retiró la cascara, la pulpa se pesó teniendo una masa total de 217.6 g y posteriormente se trituró. Finalmente, la pulpa triturada se filtró con gasa para eliminar las semillas.

#### **4.2 Obtención del extracto**

El triturado de tuna se dividió en 3 fracciones para su tratamiento, en el que se obtuvieron 3 extractos diferentes. Para la fracción I se mezcló el triturado con etanol al 96% en una proporción 1:2 y se mantuvo sin conservador; para la fracción II se mezcló el triturado con agua ozonificada en proporción 1:2 y se añadió como conservador la mezcla metilparabeno/propilparabeno; y el resto del triturado se etiquetó como fracción III en la que se utilizó benzoato de sodio como conservador. Una vez realizado esto, las 3 fracciones fueron tratadas de la misma manera, se agitaron durante 10 min y se mantuvieron en maceración durante 7 días, cuando hubo transcurrido ese tiempo se filtraron nuevamente, se observó el aspecto de cada extracto y se midió el pH de los mismos para el control de calidad. Los extractos fueron almacenados a temperatura ambiente y en frascos color ámbar para proteger de la luz. En el siguiente diagrama (Figura 8) se resume el procesamiento de la muestra y la obtención de los extractos como se mencionó anteriormente.

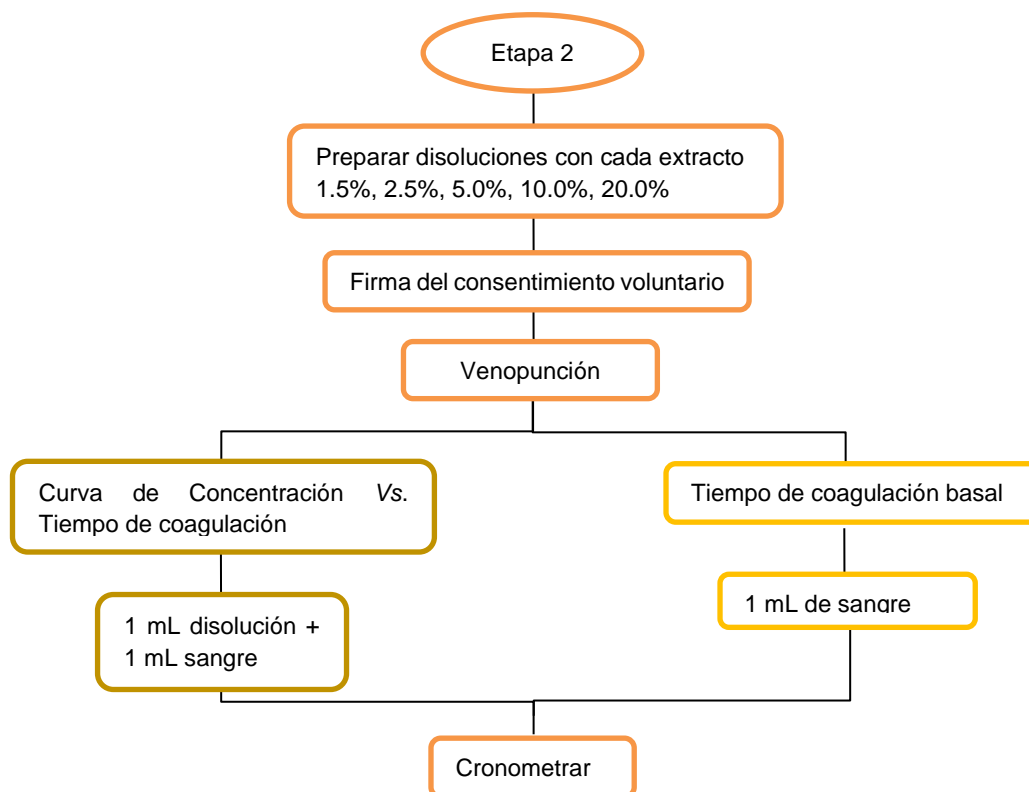


**Figura 8.** Primera etapa del plan de trabajo: Obtención de extractos

### 4.3 Prueba de coagulación

Se realizó la prueba de coagulación con los extractos obtenidos con el fin de demostrar su posible efecto cicatrizante, y para determinar la concentración de trabajo para la elaboración de los productos se realizaron gráficos de Concentración Vs.

Tiempo de coagulación. Se prepararon disoluciones de cada extracto en concentraciones de 1.5%, 2.5%, 5.0%, 10.0% y 20.0% en las que se utilizó SSI como disolvente. Se obtuvieron muestras de sangre de voluntarios sanos de entre 19 y 25 años de edad que aceptaron participar en esta prueba y firmaron voluntariamente el consentimiento informado proporcionado antes de dar inicio (Ver Anexo 2). La muestra de sangre fue obtenida por venopunción con mariposa, se mezclaron en tubos de ensaye 1 mL de sangre con 1 mL de disolución de extracto y se cronometró el tiempo desde la extracción y hasta que se formó el coágulo de sangre en cada tubo. De la misma manera se determinó el tiempo de coagulación basal de cada voluntario cronometrando el tiempo desde la extracción y hasta la formación de coagulo sin la adición de extracto. En la Figura 9 que se muestra a continuación se resume el procedimiento utilizado en esta prueba.



**Figura 9.** Segunda etapa del plan de trabajo: Prueba de coagulación



#### 4.4 Desarrollo de emulgel con el extracto de tuna

Se propuso una formulación para la elaboración del emulgel base en la que se utilizaron los excipientes que se muestran a continuación en la tabla 2

**Tabla 2.** *Excipientes utilizados en la formulación del emulgel base*

<b>Excipiente</b>	<b>Función</b>	<b>Concentración</b>
<b>Carbomero</b>	Modificador reológico	0.5% - 2.0%
<b>Tween 80</b>	Tensoactivo	5% - 10%
<b>Glicerina</b>	Humectante	1%
<b>Aceite vegetal</b>	Emoliente, Oclusivo, Humectante	20% - 30%
<b>TEA</b>	Ajustar pH	c.b.p.
<b>Agua ozonificada</b>	Vehículo	70% - 80%
<b>Benzoato de sodio</b>	Conservador	0.1% - 0.5%
<b>Fragancia</b>	Mejorar el olor	c.b.p.

Fuente: Datos obtenidos de Rowe et al., 2009

Para la preparación del emulgel previamente se puso a hidratar el carbomero con agua y TEA durante 24 h, mientras tanto se mezcló el aceite vegetal y Tween 80 que integraron la fase oleosa y esta fase se fue mezclando poco a poco al carbomero hidratado con agitación constante, una vez integradas ambas fases se añadió el conservador, la glicerina, fragancia y se volvió a mezclar. Una vez terminado el emulgel base, este se dividió en 4 porciones iguales para la adición de los extractos: la primera porción se etiquetó como emulgel base; a la segunda porción se le añadió el extracto etanólico (fracción I) y se etiquetó como emulgel I; a la tercera porción se añadió el extracto acuoso (fracción II) y se etiquetó como emulgel II y para la cuarta

y última porción se añadió el triturado etiquetado como fracción III y el emulgel se etiquetó de la misma manera, como emulgel III.

A los productos finales se les realizaron las pruebas que se describen a continuación para demostrar su estabilidad:

- Determinación del pH. Durante el desarrollo de la formulación y semanalmente (durante 9 semanas) se midió el pH del emulgel base y con extracto, para esta prueba se hizo uso de tiras reactivas.
- Centrifugación. Se realizó una centrifugación por única ocasión a 3000 rpm durante 1 min.
- Pruebas organolépticas. Semanalmente (durante 9 semanas) se evaluaron los emulgeles para determinar el color, olor, consistencia y apariencia de los mismos.
- Ciclado de temperatura. Semanalmente (durante 9 semanas) se realizó el cambio de temperatura en los emulgeles de 2°C a 20°C y viceversa.
- Pruebas microbiológicas. Los análisis microbiológicos se realizaron tomando como referencia el MGA 0571, Límites microbianos de la FEUM, Apéndice VII Análisis microbiológico de productos farmacéuticos no estériles.

Las especificaciones establecidas como control de calidad para el emulgel se muestran a continuación

**Tabla 3.** *Especificaciones que debe cumplir el emulgel*

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>
<b>pH</b>	4.5-5.5
<b>Centrifugación</b>	Sin separación de fases
<b>Pruebas organolépticas (olor, color, consistencia, apariencia)</b>	Olor característico a la tuna, color blanco, apariencia homogénea y consistencia suave y cremosa
<b>Ciclado de temperatura</b>	Sin separación de fases o cambio en las pruebas organolépticas
<b>Microbiológica</b>	OMA no más de 100 UFC, HL no más de 10 UFC CT no más de 10 UFC (por 1 g)

#### **4.5 Desarrollo de parche con el extracto de tuna**

Para el desarrollo de parche se propuso la formulación para el parche base con los excipientes que se muestran a continuación en la tabla 4.

**Tabla 4.** *Excipientes utilizados en la formulación del parche base*

<b>Excipiente</b>	<b>Función</b>	<b>Concentración</b>
<b>Grenetina, Goma xantana</b>	Gelificante	10.0% - 15.0%
<b>Glicerina</b>	Humectante	1%
<b>Agua ozonificada</b>	Solvente	80% - 90%
<b>Benzoato de sodio</b>	Conservador	0.1% - 0.5%
<b>Fragancia</b>	Mejorar el olor	c.b.p.

Fuente: Datos obtenidos de Rowe et al., 2009

Para preparar el parche base se disolvió la grenetina en agua caliente, una vez que se formó una mezcla homogénea se añadieron los otros excipientes sin dejar de mezclar, se vertió la mezcla en moldes y se dejó solidificar durante 24 h. Mientras tanto se prepararon los sueros en los que se mantendrían embebidos los parches, para lo cual se mezcló agua ozonificada con cada extracto. Una vez solidificados los parches se desmoldaron y se cortaron en pequeños cuadrados para su almacenamiento en cajas petri estériles y se conservaron embebidos en uno de los sueros preparados: el parche base se mantuvo en agua ozonificada, el parche etiquetado con el número “I” se mantuvo embebido en el suero que contenía el extracto etanólico (fracción I), el parche “II” se mantuvo embebido en el suero que contenía el extracto acuoso (fracción II) y el parche “III” se mantuvo embebido en el suero que contenía el triturado (fracción III).

A los productos finales se les realizaron las pruebas que se describen a continuación para demostrar su estabilidad:

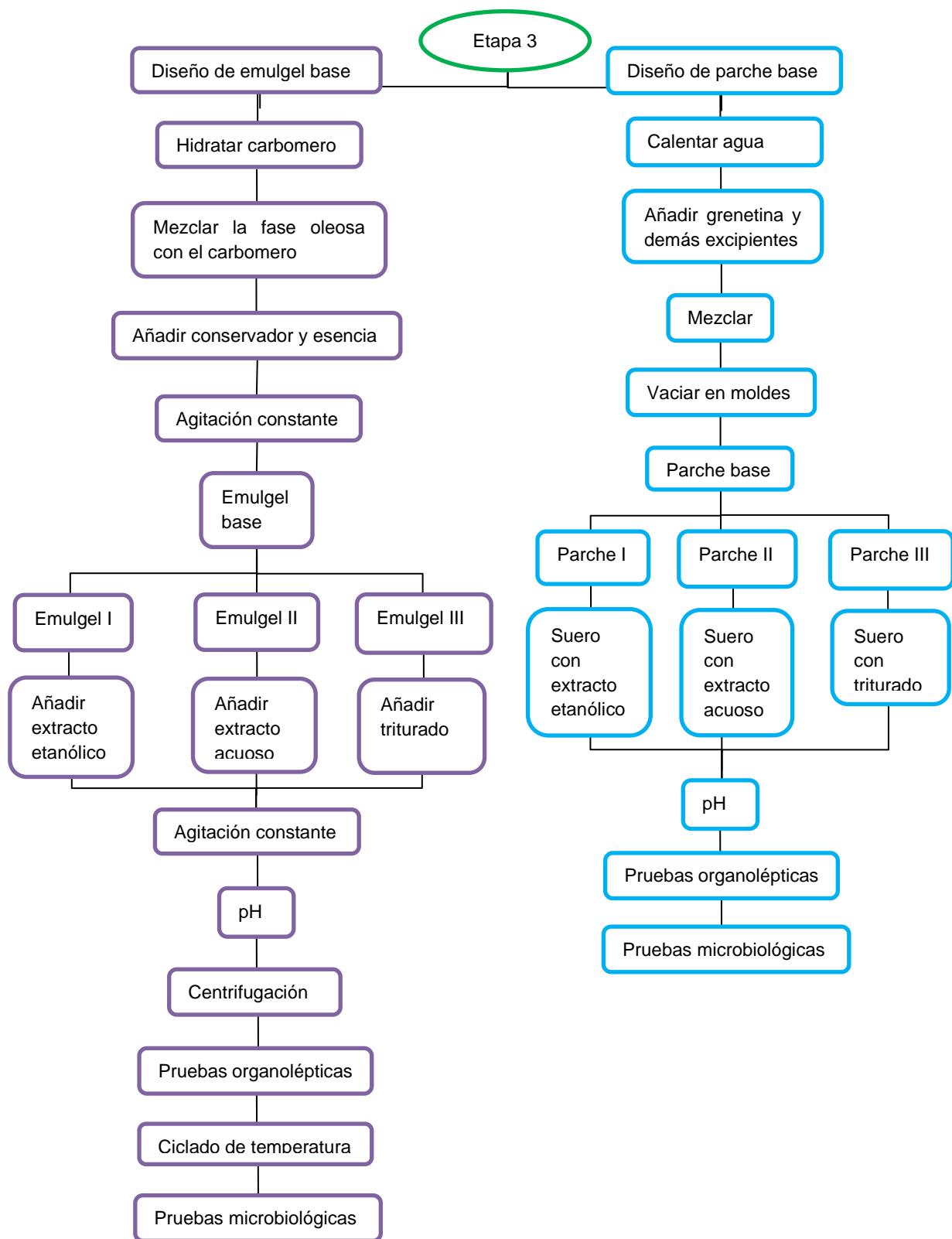
- Pruebas organolépticas. Semanalmente (durante 9 semanas) se evaluaron los parches para determinar el color, olor, consistencia y apariencia.
- Determinación de pH. Se midió el pH semanalmente (durante 9 semanas) con tiras reactivas al suero en el que estaban embebidos los parches.
- Pruebas microbiológicas. Los análisis microbiológicos se realizaron tomando como referencia el MGA 0571, Límites microbianos de la FEUM, Apéndice VII Análisis microbiológico de productos farmacéuticos no estériles.

Las especificaciones establecidas como control de calidad para el parche se muestran a continuación en la Tabla 5.

**Tabla 5.** *Especificaciones que debe cumplir el parche*

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>
<b>Olor</b>	Característico de la tuna
<b>Color</b>	Verde
<b>Apariencia</b>	Homogénea, sin partículas o grumos
<b>Consistencia</b>	Suave, ligero, húmedo
<b>pH</b>	4.5-6.0
<b>Microbiológica</b>	OMA no más de 100 UFC, HL no más de 10 UFC CT no más de 10 UFC (por 1 parche)

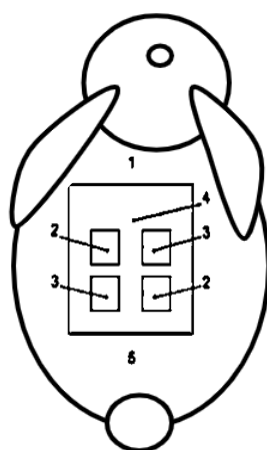
En la Figura 10 que se muestra a continuación se resume el procedimiento llevado a cabo en el diseño de los dispositivos médicos.



**Figura 10.** Tercera etapa del plan de trabajo: Diseño de productos y caracterización

#### 4.6 Prueba de sensibilidad cutánea en conejos cepa Nueva Zelanda

Para esta prueba se cuenta con un formato CICUAL aprobado (Ver Anexo 1) y está descrita en la FEUM 12ª edición, MGA 0515. Para la realización de esta prueba a un total de 3 conejos en los cuales se evaluaron simultáneamente los emulgeles y parches, para lo cual se les administró anestesia (Xilacina/Ketamina en dosis de 1 mg/Kg y 10 mg/Kg respectivamente, aplicación vía Intravenosa en la vena marginal; utilizando aguja calibre 27 G y jeringa de 1 mL), ya anestesiados se les realizó una tricotomía en el dorso con navaja de afeitar y se observó la zona por 24 h para comprobar que no existiera irritación en la piel debido a este proceso. Una vez limpia la zona se marcaron los cuadrantes como se muestra a continuación (Figura 11) con plumón indeleble y se aplicaron los productos correspondientes.



**Figura 11.** División de cuadrantes en conejos para prueba de sensibilidad como lo establece la FEUM 12ª edición. Donde, 1: extremo craneal; 2: sitio de prueba; 3: sitio de control; 4: región dorsal recortada y 5: extremo caudal.

Se cubrió la zona con una gasa durante 5 min, se visualizó la zona a los 60 min, 24 h, 48 h y 72 h tomando fotos en cada tiempo como evidencia. Los parámetros a evaluar fueron los que se muestran a continuación en la tabla 6 de acuerdo a lo

descrito en la FEUM 12ª edición, MGA 0515, donde el grado de irritación se determina sumando el valor de cada reacción presentada por los individuos a las 24 h y 72 h, se obtiene el promedio (n=3) y se divide entre 4.

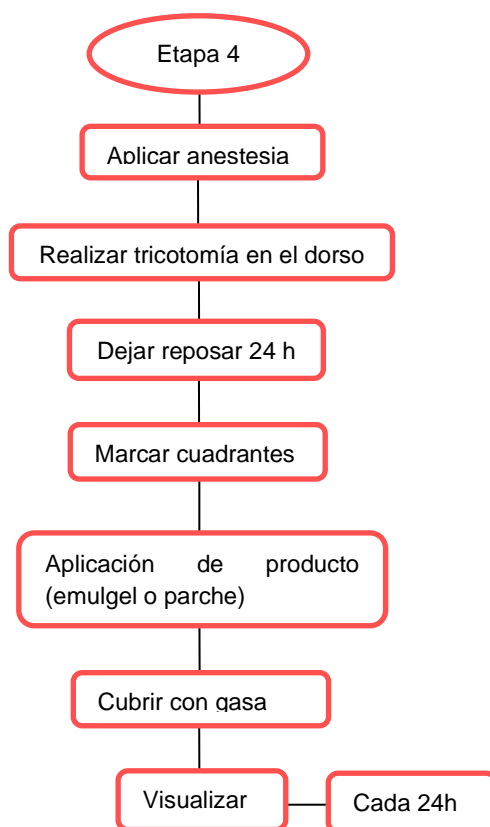
**Tabla 6.** *Evaluación de la reacción de irritación en piel*

<b>Reacción cutánea</b>		<b>Valor</b>
<b>Eritema y formación de escaras</b>	No eritema	0
	Eritema muy ligero (apenas perceptible)	1
	Eritema bien definido	2
	Eritema de moderado a severo	3
	Eritema severo a formación ligera de escaras (heridas en profundidad)	4
<b>Formación de edema</b>	No edema	0
	Edema muy ligero (apenas perceptible)	1
	Edema ligero (bordes del área conspicuos por elevación definida)	2
	Edema moderado (elevación de aproximadamente 1 mm)	3
	Edema severo (elevación mayor de 1 mm y extendiéndose más allá del área de exposición)	4

Fuente: FEUM, 12ª edición, MGA 0515

En la Figura 12 se resume el procedimiento que se llevó a cabo en esta prueba.



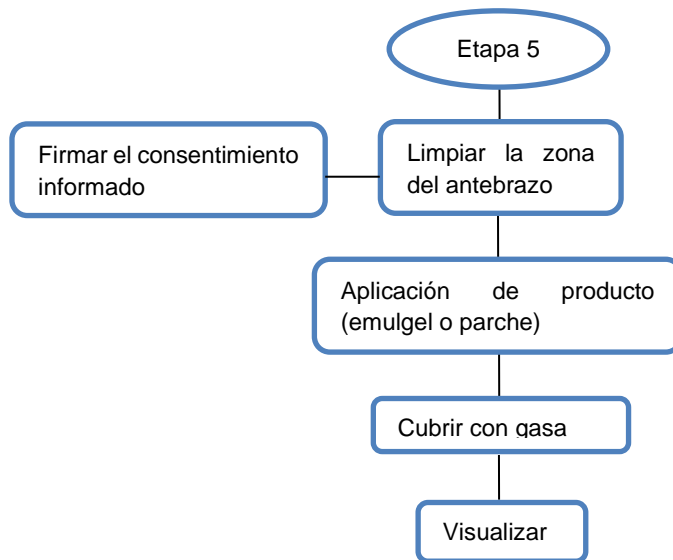


**Figura 12.** Cuarta etapa del plan de trabajo: Prueba de sensibilidad cutánea en conejo Nueva Zelanda

#### 4.7 Prueba de sensibilidad cutánea en humanos

Se realizó la prueba de sensibilidad en humanos descrita en la FEUM 12a edición. Antes de iniciar con esta prueba se firmó el consentimiento informado (Ver Anexo 3) de los voluntarios que aceptaron participar, en total se obtuvo la participación de 25 individuos. Se limpió la zona del antebrazo tanto derecho como izquierdo con agua y gasa cuidando de no tallar para no causar irritación, esto con el fin de retirar cualquier otro producto que estuviera aplicado en la piel. Una vez limpia la zona se aplicaron las diferentes formulaciones de emulgel en un antebrazo y las del parche en el otro antebrazo, se puso una gasa durante 5 min para un mejor contacto, se evaluó la zona a los 5 min, 30 min, 60 min y pasadas 24 h de su aplicación. La elección de estos

tiempos fue debido a la rutina de aseo de los participantes. Como evidencia se tomaron fotografías en cada tiempo. En la Figura 13 se resume el procedimiento que se llevó a cabo en esta prueba.



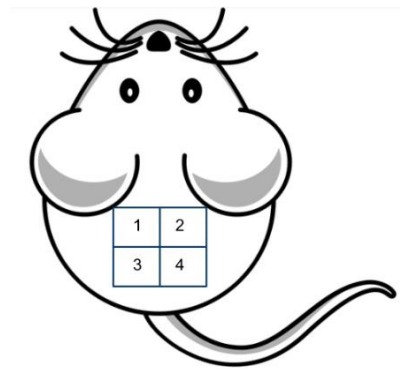
**Figura 13.** *Quinta etapa del plan de trabajo: Prueba de sensibilidad cutánea en humanos*

#### **4.8 Modelo de heridas inducidas en ratas Wistar**

Esta prueba cuenta con un formato CICUAL aprobado (Ver Anexo 1). Para su realización se utilizaron un total de 16 animales divididos en 2 grupos con 8 ratas cepa Wistar hembras cada uno, en un grupo se evaluaron las diferentes formulaciones de emulgel y en el otro grupo las de parche.

Se aplicó anestesia a las ratas (Pentobarbital en dosis de 32 mg/Kg, aplicación vía Intraperitoneal; utilizando aguja calibre 27 G y jeringa de 1 mL) y una vez que se presentó el efecto hipnótico se realizó la tricotomía del dorso con navaja de afeitar.

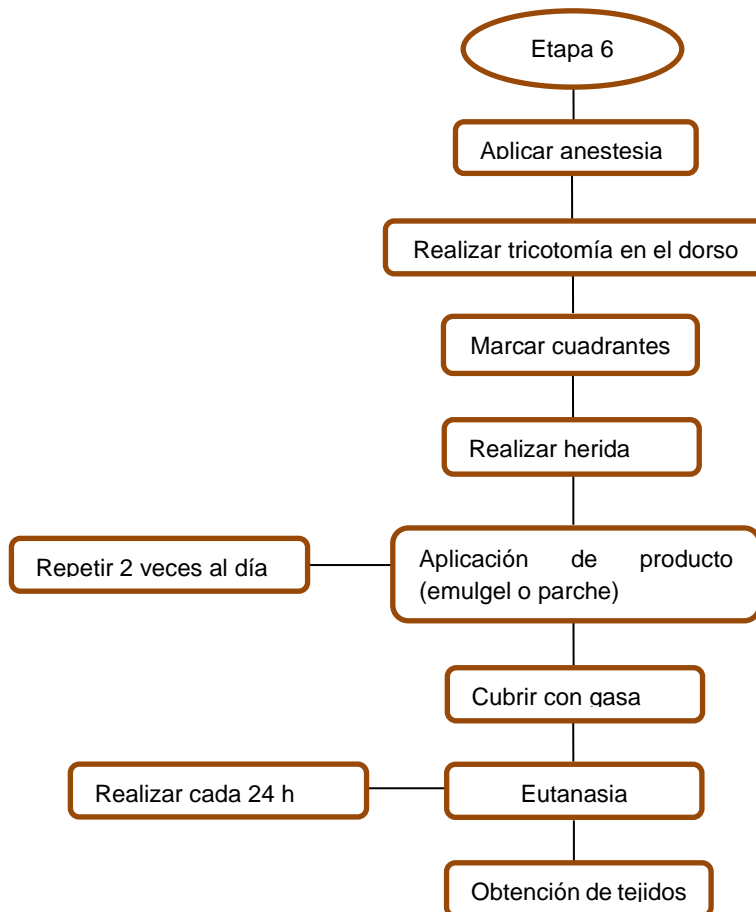
Cuando la zona estuvo libre de pelo se dividió en cuadrantes como se muestra a continuación (Figura 14) y se marcaron con plumón indeleble.



**Figura 14.** *Distribución de cuadrantes para prueba de cicatrización en ratas.* Donde, 1: Herida + vehículo (control negativo), 2: Herida + marca comercial (control positivo), 3: Herida + producto final y 4: Piel intacta

Se prosiguió con la realización de las heridas, utilizando una navaja de afeitar se introdujo en la piel y se realizó un solo corte de profundidad tal que se logró observar el tejido adiposo de unión entre la piel y el músculo. Inmediatamente después de inducir la herida se aplicaron las formulaciones correspondientes en cada grupo y la zona se cubrió con una gasa durante todo el tiempo que estuvieron en estado hipnótico. La aplicación se realizó 2 veces al día durante 8 días de la misma manera que se describió anteriormente y en el caso del parche se sujetó la gasa con cinta adhesiva para lograr un tiempo de contacto entre la piel y el parche más largo, debido a que el movimiento de los animales dificultaba esta condición. Durante este tiempo se sacrificó una rata de cada grupo cada 24 h con el método de dislocación cervical y se procedió a obtener los tejidos de piel. Para este procedimiento se cortó cada cuadrante con navaja de afeitar siguiendo las marcas realizadas y con la ayuda de unas pinzas de extracción se fue obteniendo cada cuadrado de piel, los tejidos se

mantuvieron embebidos en formol en todo momento hasta que se completó el tratamiento para el último individuo. En la Figura 15 se muestra un resumen de las actividades llevadas a cabo en esta prueba.

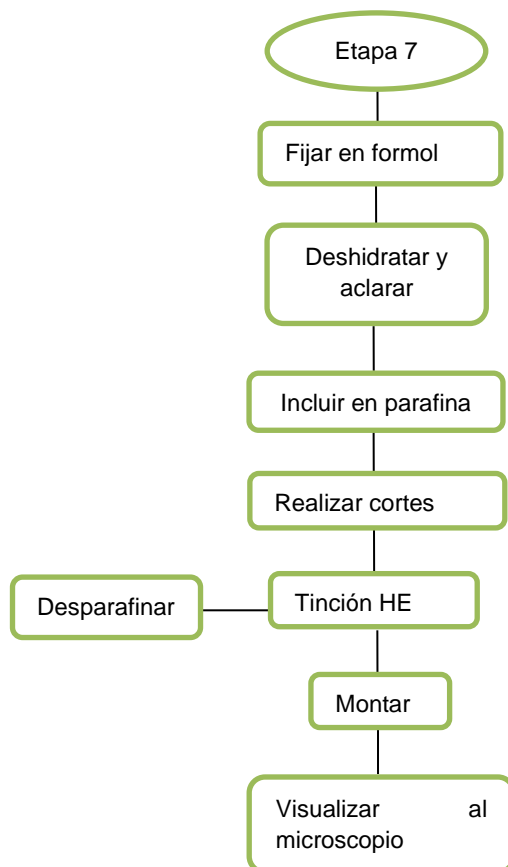


**Figura 15.** Sexta etapa del plan de trabajo: Modelo de heridas inducidas en ratas

*Wistar*

#### 4.9 Histología de tejidos

Una vez obtenidas todas las muestras se llevó a cabo la técnica de histología de tejidos para su visualización al microscopio. Para esta técnica los tejidos fueron fijados en formol, y posteriormente se procesaron en un tren de disoluciones para su deshidratación y aclarado que incluyó etanol 70%, etanol 90%, etanol absoluto y xilol. Después fueron incluidas en parafina y así finalmente se realizaron los cortes en un microtomo. Una vez obtenidos los cortes se realizó una tinción de hematoxilina-eosina, se montaron y visualizaron en un microscopio óptico.



**Figura 16.** Séptima etapa del plan de trabajo: Histología de tejidos

#### **4.10 Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa Excel 2019, mediante las herramientas complementarias Real Statistics. Se utilizó la prueba de ANADEVIA de una vía; para los valores obtenidos de  $p < 0.05$  se realizó una prueba *post hoc*: Dunnett (comparación contra un control); \* se señaló donde se encontraron diferencias significativas.

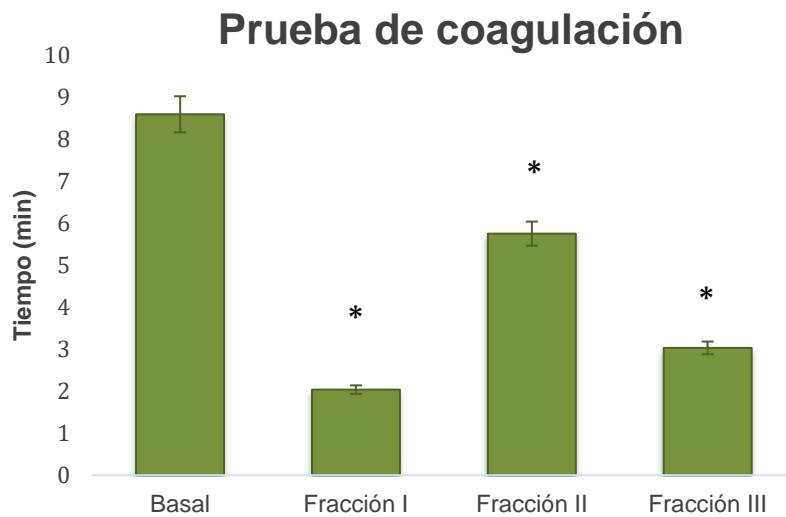
#### **4.11 Referencias y presentación de Tablas y Figuras**

Las referencias y la forma en la que se presentaron las Figuras y tablas en este trabajo se realizaron en formato APA de acuerdo a lo descrito en la 7ª edición.

### **RESULTADOS**

- Extracto.

Los extractos de tuna fueron evaluados con la prueba de coagulación, la cual sugiere el posible efecto cicatrizante de los extractos. En la Figura 17 se muestran los resultados obtenidos de la prueba de coagulación para los extractos en la que se muestra el tiempo en que se formó el coaguló en la muestra de sangre al añadir cada extracto comparado con el tiempo basal al que no se le añadió extracto.

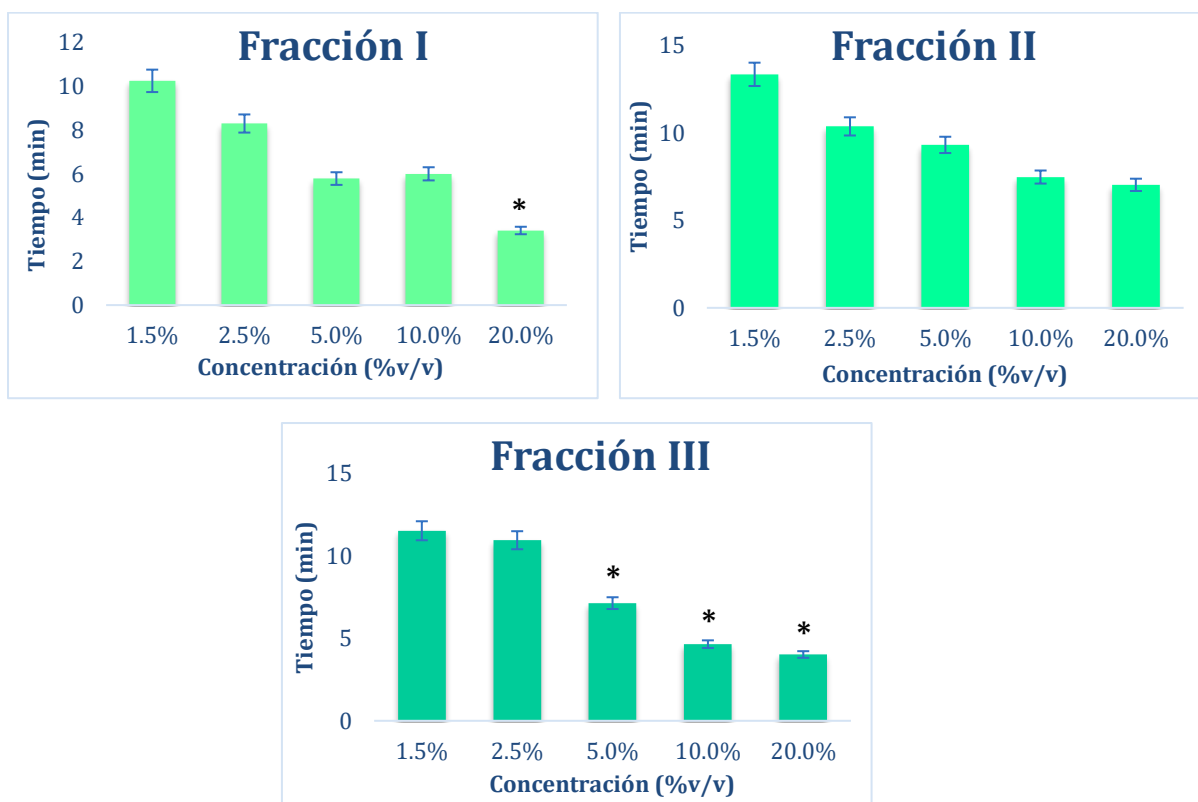


**Figura 17.** *Tiempo de coagulación para cada extracto obtenido en la prueba de coagulación. Donde cada barra representa el promedio de tiempo  $\pm$  E.E (n=3)*

\* $p < 0.05$  Valor de significancia con respecto al tiempo basal

*Nota.* Se observa el tiempo de coagulación basal y los correspondientes a las 3 fracciones obtenidas del extracto de tuna

En adición, se construyó un gráfico de Concentración Vs. Tiempo de coagulación para cada extracto con el fin de determinar la concentración de trabajo para el diseño de los productos finales, teniendo así que la concentración ideal de trabajo fue del 20% v/v para los 3 extractos como se muestra en la Figura 18.



**Figura 18.** Tiempo de coagulación en función de la concentración de los extractos I, II y III. Donde cada barra representa el promedio de tiempo  $\pm$  E.E (n=3)

\* $p < 0.05$  Valor de significancia con respecto al tiempo de la concentración 1.5%.

- Emulgel

Para garantizar una buena calidad de los productos finales, se realizaron pruebas organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas. En la tabla 7 se muestran los resultados de estas pruebas y las especificaciones establecidas como criterios de aceptación para emulgel I, II y III.



**Tabla 7.** Resultados de las pruebas organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas de emulgel I, II y III.

	<b>Prueba</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>Resultados</b>	<b>Criterio de aceptación</b>
<b>Emulgel I</b>	Olor	Característico de la tuna	Característico de la tuna	Cumple
	Color	Blanco	Blanco	Cumple
	Consistencia	Suave, cremoso	Suave, cremoso	Cumple
	Apariencia	Homogéneo	Homogéneo	Cumple
	pH	4.5-6.5	5	Cumple
	Centrifugación	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Cumple
	Ciclado de temperatura	Sin separación de fases ni cambios en las pruebas organolépticas	Sin separación de fases ni cambios en las pruebas organolépticas	Cumple
	Microbiológicas	OMA $\leq$ 100 UFC, HL $\leq$ 10 UFC CT $\leq$ 10 UFC (por 1 g)	OMA <100 UFC HL <10 UFC CT <10 UFC	Cumple
<b>Emulgel II</b>	Olor	Característico de la tuna	Característico de la tuna	Cumple
	Color	Blanco	Blanco	Cumple
	Consistencia	Suave, cremoso	Suave, cremoso	Cumple
	Apariencia	Homogéneo	Homogéneo	Cumple
	pH	4.5-6.5	5	Cumple
	Centrifugación	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Cumple
	Ciclado de temperatura	Sin separación de fases ni cambios en las pruebas organolépticas	Sin separación de fases ni cambios en las pruebas organolépticas	Cumple
	Microbiológicas	OMA $\leq$ 100 UFC, HL $\leq$ 10 UFC CT $\leq$ 10 UFC (por 1 g)	OMA <100 UFC HL <10 UFC CT <10 UFC	Cumple
<b>Emulgel III</b>	Olor	Característico de la tuna	Característico de la tuna	Cumple
	Color	Blanco	Blanco	Cumple
	Consistencia	Suave, cremoso	Suave, cremoso	Cumple
	Apariencia	Homogéneo	Homogéneo	Cumple

pH	4.5-6.5	5	Cumple
Centrifugación	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Cumple
Ciclado de temperatura	Sin separación de fases ni cambios en las pruebas organolépticas	Sin separación de fases ni cambios en las pruebas organolépticas	Cumple
Microbiológicas	OMA $\leq$ 100 UFC, HL $\leq$ 10 UFC CT $\leq$ 10 UFC (por 1 g)	OMA $<$ 100 UFC HL $<$ 10 UFC CT $<$ 10 UFC	Cumple

- Parche

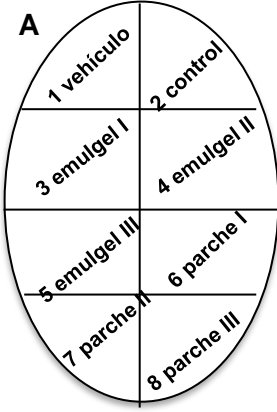
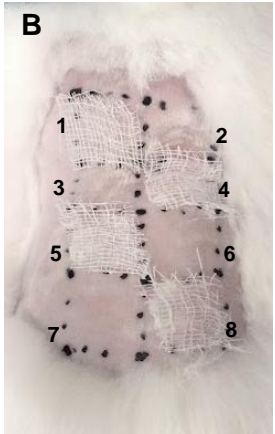
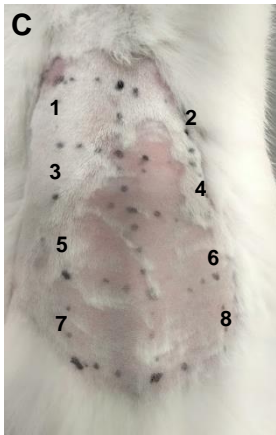
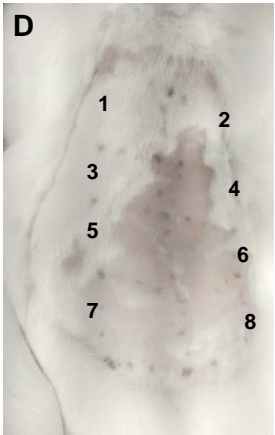
Para el parche se realizaron de igual manera las pruebas organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas, en la tabla 8 se muestran los resultados y las especificaciones establecidas como control de calidad para el parche I, parche II y parche III respectivamente.

**Tabla 8.** Resultados de las pruebas organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas para el parche I, II y III.

	<b>Prueba</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>Resultados</b>	<b>Criterio de aceptación</b>
<b>Parche I</b>	Olor	Característico de la tuna	Característico de la tuna	Cumple
	Color	Verde	Verde	Cumple
	Consistencia	Suave, húmedo, ligero	Suave, húmedo, ligero	Cumple
	Apariencia	Homogéneo, sin partículas o grumos	Homogéneo, sin partículas o grumos	Cumple
	pH	4.5-6.5	5	Cumple
	Microbiológicas	OMA $\leq$ 100 UFC, HL $\leq$ 10 UFC CT $\leq$ 10 UFC (por 1 g)	OMA <100 UFC HL <10 UFC CT <10 UFC	Cumple
<b>Parche II</b>	Olor	Característico de la tuna	Característico de la tuna	Cumple
	Color	Verde	Verde	Cumple
	Consistencia	Suave, húmedo, ligero	Suave, húmedo, ligero	Cumple
	Apariencia	Homogéneo, sin partículas o grumos	Homogéneo, sin partículas o grumos	Cumple
	pH	4.5-6.5	5	Cumple
	Microbiológicas	OMA $\leq$ 100 UFC, HL $\leq$ 10 UFC CT $\leq$ 10 UFC (por 1 g)	OMA <100 UFC HL <10 UFC CT <10 UFC	Cumple
<b>Parche III</b>	Olor	Característico de la tuna	Característico de la tuna	Cumple
	Color	Verde	Verde	Cumple
	Consistencia	Suave, húmedo, ligero	Suave, húmedo, ligero	Cumple
	Apariencia	Homogéneo, sin partículas o grumos	Homogéneo, sin partículas o grumos	Cumple
	pH	4.5-6.5	5	Cumple
	Microbiológicas	OMA $\leq$ 100 UFC, HL $\leq$ 10 UFC CT $\leq$ 10 UFC (por 1 g)	OMA <100 UFC HL <10 UFC CT <10 UFC	Cumple

- Prueba de sensibilidad cutánea en conejo Nueva Zelanda.

Para la prueba de sensibilidad en conejo se obtuvieron los resultados que se muestran en la Figura 19, en adición se muestran imágenes como evidencia de la prueba.




Reacción cutánea	Valor	Conclusión	Evidencia
Eritema y formación de escaras para piel intacta	24h 0 72h 0	No irritante	 
Formación de edema para piel intacta	24h 0 72h 0		 

**Figura 19.** Resultados de la prueba de sensibilidad cutánea en conejo para emulgel y parche

*Nota.* El grado de irritación es 0/4. Se observa en A los cuadrantes y la aplicación que se realizó en cada uno de ellos, en B a los 5 min de su administración, en C a las 24 h y en D a las 72 h.

- Prueba de sensibilidad cutánea en humanos

En la Figura 20 se muestran los resultados de la prueba de sensibilidad cutánea realizada en humanos, una vez que se demostró que en conejo no causó irritación.

Reacción cutánea	Valor		Conclusión	Evidencia							
Eritema y formación de escaras para piel intacta	60min	0	No irritante	<table border="1"> <tr> <td>A</td> <td></td> </tr> <tr> <td>1 vehículo</td> <td>2 fracción I</td> </tr> <tr> <td>3 fracción II</td> <td>4 fracción III</td> </tr> </table>	A		1 vehículo	2 fracción I	3 fracción II	4 fracción III	
	A										
1 vehículo	2 fracción I										
3 fracción II	4 fracción III										
24 h	0										
Formación de edema para piel intacta	60min	0									
	24h	0									

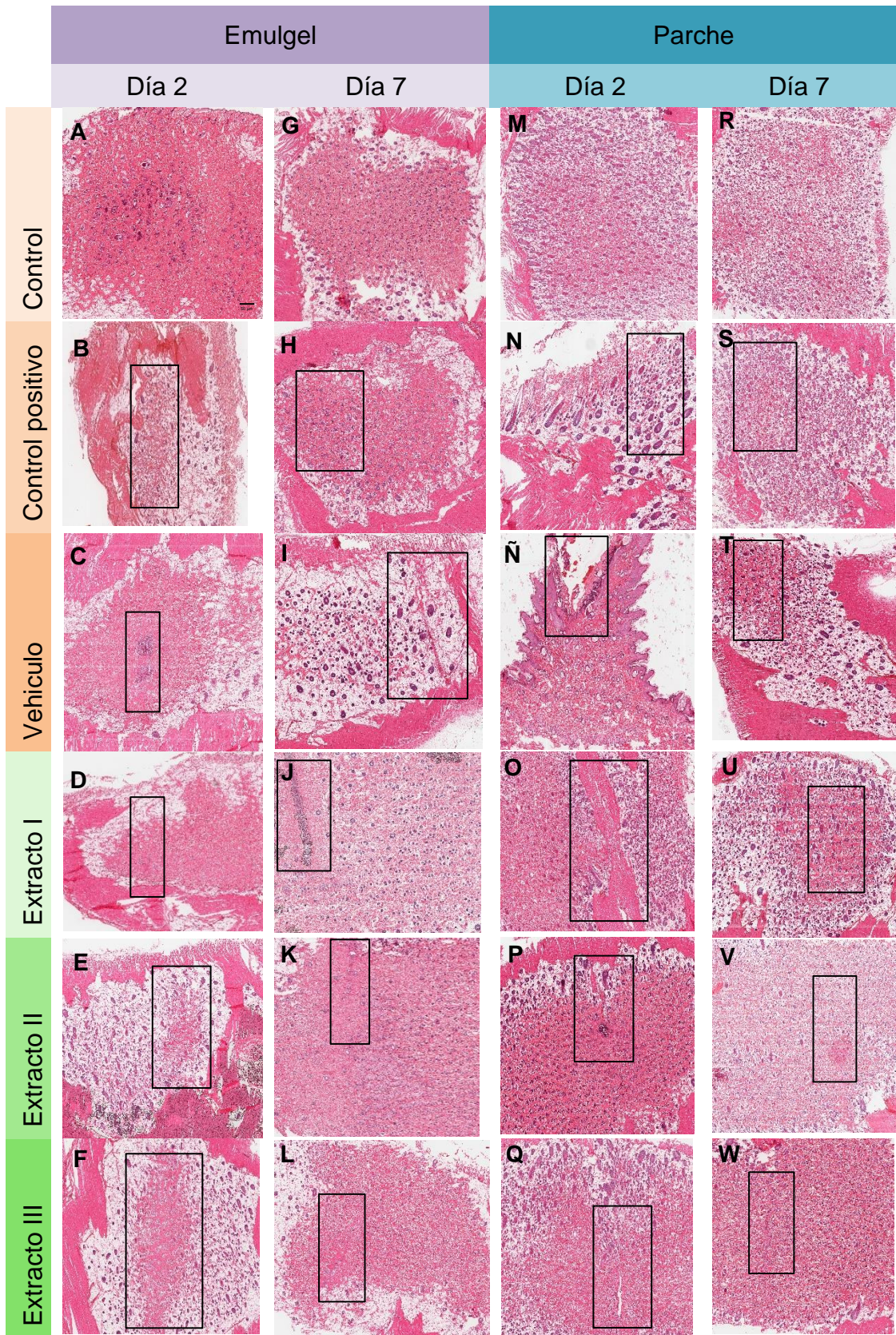
**Figura 20.** Resultados de la prueba de sensibilidad cutánea en humanos para emulgel y parche

*Nota.* El grado de irritación es 0/4. Se observa en A los cuadrantes con el producto aplicado en cada uno de ellos, B corresponde a los 5 min después de su administración, C a los 60 min y D a las 24 h.

Esta prueba se realizó de la misma manera para parche y para emulgel, los resultados obtenidos fueron los mismos, aquí solo se muestra la evidencia tomada a un voluntario.

- Prueba de cicatrización

Para demostrar el efecto cicatrizante del extracto de tuna se muestran a continuación las imágenes obtenidas del microscopio en el desarrollo del modelo de heridas inducidas en ratas Wistar (Figura 21) Se observa que para parches y emulgel en los controles no hay cambios en las estructuras morfológicas consideradas como normales en la piel a los días 2 y 7. En las micrografías correspondientes al día 2 tanto parche como para emulgel se observa hemorragia y un aumento de eritrocitos que se caracterizan por ser células redondeadas anucleadas constituyendo una zona rosada en el sitio de la lesión, mientras que en el día 7 donde ya no es visible la herida. Asimismo, se observa migración y proliferación de células nucleadas que corresponden a células del sistema inmunológico y fibroblastos, que están llevando a cabo la regeneración de la matriz extracelular.



**Figura 21.** Tinciones H&E de piel de rata (cepa Wistar) modelo de heridas inducidas para emulgel y parche de extracto de tuna, aumento 20x. Donde A,G,M Y R corresponden al control en el día 2 y 7 de emulgel y parche respectivamente; B,H,N y S corresponden al control positivo (marca comercial Cicatricure®) en el día 2 y 7 de emulgel y parche respectivamente; C,I,Ñ y T corresponden al vehículo en el día 2 y 7 de emulgel y parche respectivamente; D,J,O y U corresponden a las formulaciones con el extracto I en el día 2 y 7 de emulgel y parche respectivamente; E,K,P y V corresponden a las formulaciones con el extracto II en el día 2 y 7 de emulgel y parche respectivamente y F,L,Q y W corresponden a las formulaciones con el extracto III en el día 2 y 7 de emulgel y parche respectivamente. Todas las imágenes tienen la misma escala.

<□> Representa la zona de la herida


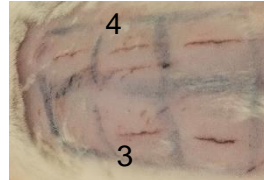
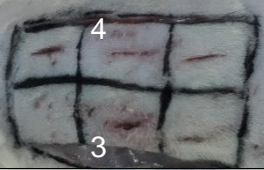

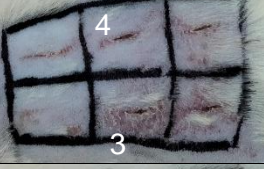
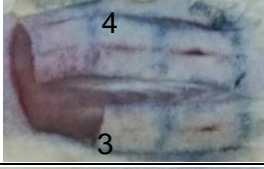
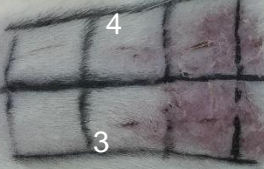
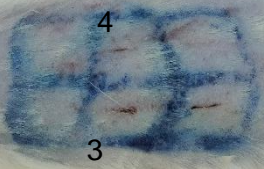
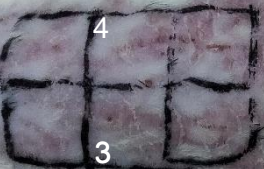
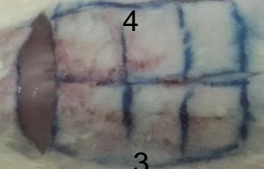
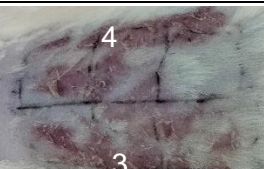
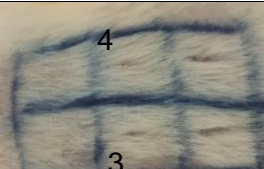
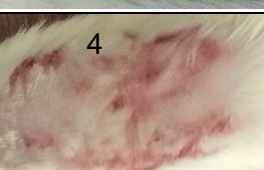
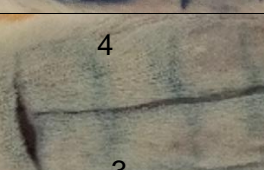
Durante el desarrollo de esta prueba se pudo observar macroscópicamente la evolución del proceso de cicatrización, en la tabla 9 se observa una mejoría notoria a partir del día 4 tanto para parche como para emulgel. La formación de la costra se hace evidente desde el día 1 de la aplicación de los productos. En el grupo de evaluación de parche se observa que el parche III mejora más rápidamente, muy similar a la marca comercial a partir del día 4, mientras que en el grupo de evaluación del emulgel se observa esto mismo con el emulgel I.

En el día 4 se puede observar de forma evidente la evolución de la lesión con el vehículo (control -), la cuál es la lesión con una costra más gruesa y evidente en este día, mientras que las demás lesiones tratadas tanto con la marca comercial (control +) como con los productos a base de extracto de tuna ya son costras más delgadas. En ningún caso se observa presencia de infección en alguna herida, por lo que el proceso de cicatrización no se vio afectado por este factor. Aunque si se observa que



en el grupo en el que se evaluó el emulgel hubo presencia de una reacción de irritación a partir del tercer día (72 h) y que fue haciéndose más evidente con el transcurso del tiempo mismo que se discutirá más adelante.

**Tabla 9.** Comparación macroscópica de la evolución de la cicatrización en el modelo inducido de heridas en taras cepa Wistar

Día	Emulgel		Parche			
1	2 1		6 5	2 1		6 5
2	2 1		6 5	2 1		6 5
3	2 1		6 5	2 1		6 5
4	2 1		6 5	2 1		6 5
5	2 1		6 5	2 1		6 5
6	2 1		6 5	2 1		6 5
7	2 1		6 5	2 1		6 5

Donde: 1: control; 2: control positivo (marca comercial Cicatricure®); 3: control negativo (vehículo); 4: producto con extracto I; 5: producto con extracto II; 6: producto con extracto III.

## **DISCUSIÓN**

Para evaluar el efecto cicatrizante de la tuna, se propuso la realización de la prueba de coagulación, debido a que es una prueba sencilla que permite visualizar de forma previa si contribuirá al efecto cicatrizante, para después llevar a cabo las pruebas con modelos animales. Los extractos I y III mostraron una disminución más evidente en el tiempo de coagulación (2 min 6 s y 3 min 2 s respectivamente) comparado con el basal que fue de 8 min 49 s, mientras que el extracto II tuvo el mayor tiempo de coagulación de los tres extractos (5 min 45 s) (Figura 17). Considerado que el 85% de la tuna es agua (Ver tabla 1), en la fracción III donde se tenía el resto del triturado se llevó a cabo una extracción acuosa al igual que en la fracción II, la diferencia está en que, en la fracción II se adicionó agua en proporción 1:1 mientras que en la fracción III la extracción se realizó con el agua ya contenida en la muestra, por lo que el extracto se diluyó, disminuyendo así la concentración de nuestros compuestos de interés en la fracción II. Esta disminución en el tiempo de coagulación nos puede dar indicio del posible efecto cicatrizante de los extractos debido a la presencia de los compuestos polifenólicos considerados cicatrizantes hemostáticos (Valencia et al., 2016) cuya función es promover la formación del coágulo de fibrina que se lleva a cabo durante la primera etapa del proceso de cicatrización y que condiciona el inicio de la siguiente etapa que es la inflamación (Senet et al, 2007), también se les atribuye actividad antiinflamatoria y antioxidante que pueden ayudar a la cicatrización o regeneración de la herida. En el extracto etanólico de tuna blanca se reporta un

contenido de fenoles totales de 3.87 miligramos equivalente a ácido gálico por gramo de extracto (mg EAG/g) y un contenido de flavonoides de 2.0 miligramos equivalente a quercetina por gramo de extracto (mg EQ/g), que promueven la actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto (Enciso, 2021). Estos datos muestran porque en el resultado de la prueba de coagulación los extractos disminuyen el tiempo de coagulación, debido a la presencia de flavonoides.

Las pruebas realizadas en los emulgeles mostraron su estabilidad, ya que, no hubo separación de las fases acuosa y oleosa, por otro lado, tanto el parche como el emulgel demostraron que la formulación piloto es adecuada al no haber diferencias entre los resultados de los productos control (emulgel base y parche base) y los elaborados con los extractos, no hay incompatibilidad de excipientes. Las pruebas organolépticas y fisicoquímicas también se mantuvieron constantes durante cada semana para cada producto, esto también nos indica su estabilidad debido a que un cambio en su aspecto físico, color u olor indicaría incompatibilidad, inestabilidad, descomposición de la formulación, contaminación bacteriana, oxidación o hidrólisis y la presencia de alguna de estas alteraciones pueden provocar disminución o pérdida del efecto esperado o incluso desarrollar efectos adversos (Sabater & Hernando, 2013). Las pruebas microbiológicas también mostraron el control de calidad para los productos elaborados ya que durante el proceso de diseño y producción se cumplieron las medidas de higiene y seguridad descritas en el reglamento de higiene y seguridad de La Facultad de Química, UNAM. Lo mismo ocurrió para el parche debido a que no se observaron diferencias en las pruebas organolépticas durante cada semana que se realizaron. Las formulaciones que en este trabajo se elaboraron y evaluaron no han sido reportadas en la literatura, por lo tanto, fue muy importante

el control de calidad durante su desarrollo y pueden servir como base para futuros trabajos en esta línea de investigación.

La prueba de sensibilidad cutánea en conejo cepa Nueva Zelanda demostró que tanto el emulgel como el parche son productos seguros para su aplicación tópica debido a que no se mostró ninguna reacción de irritación a las 72 hrs de su aplicación, por lo que se procedió a realizar la prueba de sensibilidad cutánea en humanos. En esta prueba participaron un total de 25 personas voluntarias, las cuales se encontraban entre los 20-60 años de edad, 15 mujeres y 10 hombres, de las cuales 2 personas dijeron tener piel sensible a los productos cosméticos. Ninguna de estas personas mostró reacciones de irritación a las 24 hrs de su aplicación, por lo que se consideraron productos seguros para su aplicación tópica en humanos.

A pesar de los resultados para estas pruebas, se observó durante el desarrollo del modelo de heridas inducidas que las ratas mostraron irritación cutánea en la piel lesionada al administrarles emulgel. La piel presentó eritema bien definido a las 72 hrs de su aplicación, la evidencia de este suceso se encuentra en la Figura 22 Anexo 5. La reacción se presentó en los cuadrantes donde se evaluaron el emulgel base y los extractos, por lo tanto, se puede concluir que fue debido a algún excipiente utilizado durante su elaboración. Si evaluamos esta reacción como se menciona en la FEUM 12<sup>a</sup> edición, MGA 0515 podemos dar una puntuación de 2 debido a que se presentó eritema en la piel con los bordes bien definidos a las 72 h, no hubo edema (puntuación 0) y no se presentó ninguna de las anteriores a las 24 h (puntuación 0 para ambas) (tabla 6). De esta manera el grado de irritación sería la suma de piel intacta a las 24 h y 72 h (ya determinado anteriormente, Figura 19) más el valor de piel erosionada a las 24 h y 72 h, es decir,  $0+0+0+2$  dando un resultado de 2, ya que

fue el mismo caso para los 6 animales el promedio sería 2, y éste se divide entre 4 obteniendo como grado de irritación 2/4. En la tabla 10, Anexo 4 se observa la interpretación de los resultados y en este caso se concluye que no es irritante para la piel intacta y no toxico para los componentes de la piel erosionada.

Una vez demostrada su estabilidad y seguridad se realizó el modelo de heridas inducidas en ratas cepa Wistar para evaluar el efecto cicatrizante de los extractos (Figura 21). En esta prueba macroscópicamente se pudo observar la formación de la costra desde el primer día de aplicación, no se observó en ningún momento signos de alguna infección y la reparación total del tejido sin una cicatriz evidente se pudo observar al sexto día en emulgel y séptimo día en parche (tabla 9). En la Figura 21 se puede observar la evolución del proceso de cicatrización en el día 2 y día 7 después de haber hecho las heridas. El emulgel elaborado con los extractos I y III (Figura 21K y 21L) muestran una mejoría en el proceso de cicatrización muy parecido a la marca comercial (Figura 21H) en el día 7. Lo mismo ocurrió con el parche II y parche III (Figura 21V y 21W), ya que se observa que al igual que en la marca comercial (Figura 21S) el tejido se ha reparado siendo muy similar a la piel control que no sufrió daño (Figura 21R). La marca comercial Cicatricure® es una combinación de extractos posee extracto de cebolla, nogal, manzanilla, tomillo, aloe y concha nacre. Los efectos cicatrizantes de estos extractos naturales están demostrados y son los componentes de varios productos en el mercado que ofrecen una acción cicatrizante, por lo que fue la marca de elección para comparar el extracto de tuna. El parche elaborado con extracto II y III, y el emulgel elaborado con el extracto I y II han tenido una respuesta satisfactoria y similar a la marca comercial, tanto en los resultados macroscópicos como en las imágenes histológicas de las heridas.

En los extractos se encuentran compuestos como vitaminas y minerales que forman parte del valor nutricional de la tuna y que también participan en el proceso de cicatrización como el calcio, magnesio, hierro, vitamina A y C. Está demostrado que una mala nutrición produce alteraciones y prolonga las fases de la cicatrización, por lo que a los pacientes también se les proporciona terapia con suplementos nutricionales orales para ayudar a la regeneración de la piel (Miren, 2015). Por ejemplo, una inadecuada ingesta de carbohidratos y zinc está relacionado con una deficiencia en la producción de colágeno y baja proliferación de fibroblastos. Niveles bajos de hierro retrasan la cicatrización debido a que hay una mala oxigenación en la herida y una reducción de las actividades del sistema inmunológico. La vitamina A también estimula el sistema inmunológico, por lo que niveles bajos de ésta provoca una fase inflamatoria prolongada. Y una baja ingesta de vitamina C puede influir negativamente en la proliferación de fibroblastos, formación de nuevos capilares y actividad del sistema inmunológico. Por lo que es importante la ingesta de suplementos orales para mejorar la cicatrización de la piel.

Hay estudios que reportan que el 15% de la actividad antioxidante total de la tuna es responsabilidad de la vitamina C y el resto de la actividad antioxidante es debido a los compuestos polifenólicos, flavonoides y a las betalainas (Galati et al., 2003). Esta actividad antioxidante evita la formación de radicales libres y previene los efectos secundarios de especies reactivas de oxígeno. Además, promueve la actividad de los neutrófilos, aumenta la proliferación y migración de los fibroblastos e interviene en la angiogénesis y la síntesis de colágeno (García et al., 2021).

En un estudio realizado por Jawad et al., 2018 se demostró que los pacientes con lesiones por quemadura a los que se les administraron antioxidantes (vitamina C, vitamina E, y Zinc, entre los compuestos presentes en la tuna) mostraron un tiempo

de recuperación menor, en comparación con los que no se les administraron antioxidantes. Durante el proceso de cicatrización se liberan radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS) por los neutrófilos como un mecanismo de defensa frente a patógenos (Carvajal, 2019), los compuestos antioxidantes ayudan a degradar estas especies para mantener un equilibrio y asegurar el buen funcionamiento del organismo, de manera que la presencia de vitamina E, vitamina C y flavonoides son benéficos en el proceso de cicatrización (Miquet et al., 2021).

El calcio juega un papel importante en el proceso de cicatrización, debido a que participa en la diferenciación celular y es precursor de la descamación de los corneocitos en el estrato corneo. En la tuna el calcio es un mineral que se encuentra en gran cantidad (tabla 1). En un estudio realizado por Piña et al., 2004 se observa en los que el grupo experimental tratado con materiales enriquecidos con calcio y zinc tuvieron una cicatrización de la piel más rápida y presentaron mejor arreglo de las fibras de colágena en comparación con el grupo control. Estudios más recientes han demostrado que después de que se realiza una lesión se produce una onda de incremento en la concentración de calcio citosólico desde el borde de la herida, esto produce un aumento en la migración y proliferación celular debido a que reduce la tasa de apoptosis, este incremento solo dura unos minutos, pero sus efectos duran más tiempo (Justet, 2019).

La vitamina A durante la fase inflamatoria estimula el sistema inmunológico y aumenta la cantidad de monocitos y macrófagos en la herida, lo que ayuda a acelerar este proceso y dar pie a la siguiente fase de la cicatrización. Esta vitamina además de

tener acción antioxidante, estimula la epitelización ya que es un cofactor en la síntesis del colágeno e interviene en la diferenciación de los fibroblastos (Miren, 2015).

El magnesio es cofactor de muchas reacciones enzimáticas en todo el cuerpo para la producción de energía, incluidas las que suceden durante el proceso de cicatrización como la síntesis de colágeno y proteínas (Miren, 2015). En un estudio realizado por Afzali et al., 2019 se comprobó que la suplementación con magnesio y vitamina E tuvo efectos benéficos en el tamaño de úlceras en pie diabético.

El hierro un componente de la hemoglobina, molécula proveedora de oxígeno a los tejidos nuevos, la neovascularización depende de las concentraciones de oxígeno y este proceso es muy importante para la regeneración del tejido además este mineral forma parte de la matriz extracelular temporal la cual sirve para el entrelazado del colágeno inmaduro (Miquet et al., 2022).

Los carbohidratos son compuestos que se encuentran en la tuna en un gran porcentaje (ver tabla 1) son sumamente importantes durante el proceso de cicatrización debido a que las células necesitan energía para proliferar y llevar a cabo sus funciones de síntesis como la producción de colágeno, incluso una persona que cursa con heridas en la piel debe aumentar la ingesta de carbohidratos para cubrir el gasto energético (Miren, 2015).

Todo lo mencionado anteriormente es consistente con lo observado en la Figura 21 debido a que en las zonas donde se aplicó solo el vehículo, al día 7 (Figura 21I y 21T) aún continua el proceso de cicatrización que se distingue por una zona con aumento de células, mientras que donde se aplicó producto a base del extracto de tuna (Figura 21K, 21L, 21V y 21W) la piel se observa muy parecida al control al día 7 (Figura 21G y



21R), esto puede deberse a los compuestos antioxidantes que están presentes en la tuna como la Vitamina C, Vitamina E, Vitamina A, Zinc, taninos y flavonoides, además a su contenido de azúcares naturales, hierro, magnesio y calcio.

## **CONCLUSIONES**

El extracto de tuna mostró una disminución en el tiempo de coagulación, por lo que podemos concluir que promueve la formación del coágulo, por lo tanto, se diseñaron el emulgel y el parche con este extracto para su aplicación tópica en heridas. Además, dichos productos demostraron su estabilidad y seguridad gracias a las pruebas realizadas. Finalmente se demostró con el modelo de heridas inducidas en ratas Wistar que el extracto de tuna mostró una mejoría y reducción del tiempo de cicatrización del tejido.

## **PERSPECTIVAS**

Para complementar este trabajo se recomienda realizar una determinación cuantitativa y cualitativa de los compuestos presentes en el extracto para determinar que compuesto o compuestos son los responsables del efecto cicatrizante. Además de la realización de pruebas para observar si el extracto de tuna también es efectivo en otro tipo de lesiones, inclusive se podrían realizar estudios para observar si mejora la apariencia de las cicatrices antiguas.

## REFERENCIAS

1. Valencia, L., Martel, S., Vargas, C., Rodríguez, C. & Olivas, I. (2016) Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*. 37(3) <https://doi.org/10.17488/rmib.37.3.4>
2. Enciso, E., Aguilar, E., Común, P. & Tinco, J., (2021) Actividad antiinflamatoria y antioxidante de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* "Tuna". *Revista de sociedad química del Perú*. 87(3) <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v87i3.348>
3. Dirección de Enfermería de la Dirección General de Calidad y Educación en Salud de la Secretaría de Salud Federal. (2018). Manual Clínico para la estandarización del cuidado y tratamiento a pacientes con heridas agudas y crónicas. [http://www.calidad.salud.gob.mx/site/editorial/docs/Manual\\_Clinico\\_Heridas.pdf](http://www.calidad.salud.gob.mx/site/editorial/docs/Manual_Clinico_Heridas.pdf)
4. Quispe, N. & Blacido, Z. (2018). Actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de los tubérculos de *ullucus tuberosus caldas* "olluco" en animales de experimentación. [Título profesional, Universidad Wiener]. [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/08/910765/actividad-cicatrizante-y-toxicidad-dermica-del-extracto-etanol\\_AfYD0j4.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/08/910765/actividad-cicatrizante-y-toxicidad-dermica-del-extracto-etanol_AfYD0j4.pdf)
5. Secretaria de Salud. Modelo de atención, Clínicas de heridas. (2018). [http://www.calidad.salud.gob.mx/site/editorial/docs/modelo\\_atencion\\_clinicas\\_heridas.pdf](http://www.calidad.salud.gob.mx/site/editorial/docs/modelo_atencion_clinicas_heridas.pdf)
6. Benedí, J. & Romero, C. (2006). Apósitos. *Farmacia profesional*. 20(6). <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-apositos-13089951#:~:text=Un%20ap%C3%B3sito%20es%20un%20producto,optimizar%20el%20proceso%20de%20cicatrizaci%C3%B3n>
7. Fernández, E., García, B., Jiménez, P., Martín, D. & Domínguez, F. (2013). *Psicología de la emoción: Procesamiento emocional*. Editorial universitaria Ramon Areces.
8. Patricia Carmona [@Dra. Patricia Carmona] Aquí todas las funciones de la piel!!. *Publicación* [Página de Facebook]. Facebook. Recuperado el 26 de diciembre del 2020 de <https://www.facebook.com/1729306073787978/photos/a.2086822831369632/3890926184292612>
9. Haftek, M. (2011). Queratinización epidérmica. *EMC-Dermatología*. 45(1). [https://doi.org/10.1016/S1761-2896\(11\)70984-0](https://doi.org/10.1016/S1761-2896(11)70984-0)

10. Buendía, A., Mazuecos, J. & Camacho, F. (2018). Anatomía y fisiología de la piel. *Manual de dermatología*. (2da Ed.). Grupo Aula Médica S.L.
11. Gartner, L. & Hiatt, J. (2008). *Texto atlas de histología: Sistema tegumentario* (3er Ed.). Mc Graw Hill.
12. García, J. & Alonso, P. (2021). Anatomía y fisiología de la piel. *Pediatría integral*. XXIV (3). 156.e1-156.e13
13. Galliano, S. & Cesario, C. (2015). *Piel*. [Guía de estudio, Instituto Universitario CEMIC] CEMIC. <https://www.cemic.edu.ar/descargas/repositorio/2guia%2015%20piel.pdf>
14. Megías, M., Molist, P, & Pombal, MA. Órganos animales: Tegumento. Atlas de histología vegetal y animal. [https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/guiada\\_o\\_a\\_04tegumento.php](https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/guiada_o_a_04tegumento.php)
15. Ramírez, G. (2010). Fisiología de la cicatrización cutánea. *Revista facultad de salud*. 2 (2). 69-78.
16. Arenas, J. (2003). Las heridas y su cicatrización. *Offarm*. 22 (5). 126-132  
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-las-heridas-su-cicatrizacion-13047753>
17. Senet, P. (2007). Fisiología de la cicatrización cutánea. *Dermatología*. 98-040-A-10  
<https://cirugia.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/07/Fisiolog%C3%ADa-de-la-cicatrizaci%C3%B3n-cut%C3%A1nea.pdf>
18. Guarín, C., Quiroga, P. & Landinez, N (2013). Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. *Revista de la Facultad de Medicina*. 61 (4). 441-448. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-0112013000400014&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-0112013000400014&lng=en&tlng=es).
19. Fernández, V. & García M. (2008). La cicatrización de las heridas. *Formación dermatológica*. 3. 8-15. <https://anedidic.com/descargas/formacion-dermatologica/03/la-cicatrizacion-de-las-heridas.pdf>
20. Velásquez, E., Fonseca, R., Ríos, J., Vásquez, E. & Bravo, J. *Árboles y arbustos de la facultad de ciencias; Angiospermas*. Laboratorio de Plantas Vasculares, FC, UNAM.  
<https://goo.su/T1Yz9>
21. El-Sayed, S., Mohamed, A., Mahmood, A. & Salih, A. (2014). Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.)

- growing in Taif, KSA. *Food chemistry*. 160 (1). 31-38  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.060>.
22. Maurer, G (s.f.). *La tuna*. Alerta nutricional. <https://alertanutricional.org/tuna-fruta-peruana.html>
23. Yanuq, S.A.C (2016). *Tuna la fruta del cactus*.  
[https://www.yanuq.com/Articulos\\_Publicados/Tuna.htm](https://www.yanuq.com/Articulos_Publicados/Tuna.htm)
24. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: Nopal*.  
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=opuntia-ficus-indica>
25. Valencia, L., Martel, S., Vargas, C., Rodríguez, C. & Olivas, I (2016) Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*. 37 (3)  
<https://doi.org/10.17488/rmib.37.3.4>
26. Sumaya, T., Suárez, T., Socorro, N., Alanís, E. & Sanpedro, J. (2010). Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. *Revista mexicana de agronegocios*. 27. 435-441. <https://www.redalyc.org/pdf/141/14114743013.pdf>
27. Martínez García, Rosa María, Fuentes Chacón, Rosa María, Lorenzo Mora, Ana María, & Ortega, Rosa M. (2021). La nutrición en la prevención y curación de heridas crónicas. Importancia en la mejora del pie diabético. *Nutrición Hospitalaria*, 38(2), 60-63. Epub 01 de noviembre de 2021. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.3800>
28. Sabater, I. & Hernando, P. (2013.). Estabilidad de los cosméticos. En P. Rayon & P. Santamariña (Eds.), *Cosmetología para estética y belleza*. (pp 173-189) McGraw-Hill.
29. Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100.  
[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152019000100091&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091&lng=en&tlng=es).
30. Rowe, R.C., Shekel, P.J. and Quinn, M.E. (2009) *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. (6th Edition). Pharmaceutical Press.

31. Reyes, M. & Levín A (s.f.). Tuna. *Frutales: especies con potencial en el secano interior*.  
<https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/7031/NR32272.pdf?sequence=12&isAllowed=y>
32. Piña, B., Tejeda, C., Regalado, L., Arenas, M., Martín S. & Montalvo, C. (2004). Cerámicas mexicanas para cicatrización de piel. *Gaceta médica de México*, 140(1), 7-14.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-38132004000100002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132004000100002&lng=es&tlng=es).
33. Miquet, L., Rodríguez, R., Chávez, MA., Orozco, MA. & Delgado, L. (2021). Niveles de ascorbato en pacientes quemados durante la fase aguda. *Cirugía Plástica Ibero-latinoamericana*. 47(2). 227-34. <https://scielo.isciii.es/pdf/cpil/v47n2/1989-2055-cpil-47-02-0227.pdf>
34. Miquet, L., Barreto, J., Rodríguez, R. & Rodríguez, O. (2022). Cicatrización y su relación con la nutrición: un enfoque necesario. *Acta Médica*. 23(3). e332-e350
35. Miren, A. (2015). El papel de la nutrición en la cicatrización de las heridas. [Trabajo de fin de grado, Universidad del país vasco] <https://www.enfermeriaaps.com/portal/wp-content/uploads/2017/03/Papel-de-la-nutricion-en-la-cicatrizacion-de-las-heridas.pdf>
36. Justet, C. (2019). Rol de la onda fugaz de calcio en la cicatrización de células de endotelio de córnea de bovino [Tesis doctoral, Universidad de la República Montevideo] PEDECIBA.  
<https://hdl.handle.net/20.500.12008/26656>
37. López, J. (s.f). *Importancia de la Nutrición en los Pacientes con Heridas*.  
<https://amcg.org.mx/importancia-de-la-nutricion-en-los-pacientes-con-heridas/>
38. Afzali, H., Jafari, A., Momen, M., Razzaghi, R., Amirani, E., Bahmani, F., Gilasi, H. & Asemi, Z. (2019). The effects of magnesium and vitamin E co-supplementation on wound healing and metabolic status in patients with diabetic foot ulcer: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Wound Repair Regen*. 27(3):277-284.
- 39.** Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 12a edición.

## ANEXOS

### Anexo 1. Carta de aprobación CICUAL para el protocolo



FACULTAD DE QUÍMICA  
COMITÉ INSTITUCIONAL PARA EL  
CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES  
DE LABORATORIO  
OFICIO/FQ/CICUAL/519/23  
ASUNTO: DICTÁMEN

**DRA. RUTH BUSTAMANTE GARCÍA**  
**MVZ ATONATIÚ GÓMEZ MARTÍNEZ**  
**DEPTO DE BIOLOGÍA**  
**FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**  
*Presente*

Por este medio le informamos que el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química, UNAM, ha revisado su protocolo:

**“Posible efecto cicatrizante del extracto del fruto de la Opuntia ficus indica (Tuna) en heridas inducidas en ratas Wistar. Prueba de sensibilidad en conejos Nueva Zelanda”**

No. de animales empleados: 16 ratas Wistar de sexo indistinto y 3 conejos Nueva Zelanda de sexo indistinto.

Emitiendo el dictamen de: **APROBADO**

Con una vigencia de: 1 año posterior a la fecha de aprobación.

Sin más por el momento le enviamos un cordial saludo.

Atentamente

*“POR MÍ RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”*

Ciudad Universitaria, CDMX a 13 de marzo del 2023.

M. en C. Ma. Isabel Gracia Mora  
Presidente

c.c.p. Dr. Miguel Costas Basin, Secretario Académico de Investigación y Posgrado, FQ.  
c.c.p. C.P. Martha Castro Gutiérrez. Secretaria Administrativa, FQ.  
c.c.p. Expediente CICUAL.

## Anexo 2. Consentimiento informado para la realización de la prueba de coagulación

### Consentimiento informado

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Lugar y Fecha: Bioterio de la Facultad de Química de la UNAM

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:

"Diseño de emulgel y parche a base del extracto del fruto de la *Opuntia ficus indica* (tuna) con posible efecto cicatrizante"

El objetivo del estudio es:

Determinar si los productos a probar poseen algún efecto sobre la coagulación sanguínea en humanos

Se me ha explicado que mi participación consistirá en:

Donar 10 mL de sangre que serán utilizados para las pruebas de coagulación sanguínea en humanos.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados.

El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque está pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Nombre y firma del paciente \_\_\_\_\_

Nombre y firma del responsable \_\_\_\_\_

### Anexo 3. Consentimiento informado para la realización de la prueba de sensibilidad cutánea en humanos.

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre

\_\_\_\_\_  
Edad

\_\_\_\_\_  
Sexo

De forma voluntaria doy mi consentimiento para que la alumna María Rebeca Mata Servín estudiante de la Facultad de Química, UNAM me realice una prueba de sensibilización en la piel para su proyecto de investigación titulado **"Diseño de emulgel y parche a base del extracto del fruto de la *Opuntia ficus indica* (tuna) con posible efecto cicatrizante"**.

Se me ha informado que la finalidad de esta prueba es determinar si existe una reacción inmunológica contra el producto o alguno de sus componentes, sabiendo que los productos son un **emulgel y un parche a base del extracto de tuna**.

De ser así, se me informó que la reacción inmunológica se hará evidente por la presencia de irritabilidad en la piel, escozor, picazón, erupciones cutáneas y/o enrojecimiento en la zona de aplicación. Debiendo lavar inmediatamente la zona para aliviar los síntomas y sin aplicar ningún producto. En caso de que persistan los síntomas acudiré a mi médico de cabecera y le informaré sobre el producto que se me aplicó.

También se me informó que la duración de la prueba será de 24 h, en las cuales se me realizará la observación y se tomará una fotografía de la piel a los 0 min, 5 min, 60 min y 24 h después de la aplicación en el antebrazo. Tiempo en el cuál me puedo retirar voluntaria e inmediatamente de la prueba, tal como se me hizo saber.

Así mismo se me aseguró la confidencialidad y privacidad de mis datos personales, y que solo los resultados autorizados por mí serán reportados.

Se resolvieron todas mis dudas satisfactoriamente al respecto del procedimiento de la prueba y de los posibles efectos adversos, por lo que firmo el presente consentimiento para poder participar en este proyecto.

\_\_\_\_\_  
Firma



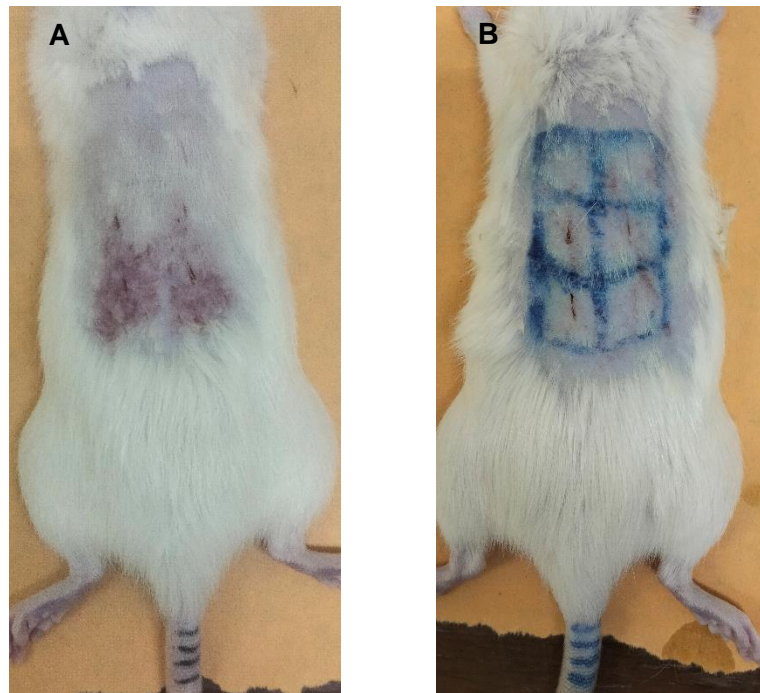
## Anexo 4

**Tabla 10.** Interpretación de resultados en la prueba de sensibilidad cutánea

Interpretación de resultados		
	Valor	Interpretación
<b>Piel intacta</b>	0 - 0,9	No irritante
	1 - 1,9	Ligeramente irritante. Requiere medidas de protección durante su uso
	2 - 4	Muy irritante (evitar su uso)
<b>Piel erosionada</b>	0 - 0,9	No tóxico para los componentes de la piel erosionada.
	1 - 1,9	Ligeramente tóxico. Requiere medidas de protección durante su uso
	2 - 4	Muy tóxico (evitar su uso)

Según al grado de irritación obtenido en la prueba de sensibilidad cutánea, las sustancias pueden clasificarse de acuerdo a la tabla 10.

## Anexo 5



**Figura 22.** *Reacción de irritación cutánea durante el modelo de heridas inducidas en ratas Wistar*

*Nota.* En las imágenes se muestra el modelo de heridas inducidas a las 72 h de la aplicación del emulgel comparando con la aplicación de parche.

<sup>a</sup> A corresponde a la aplicación de emulgel y se observa que a las 72 h se produjo eritema bien definido.

<sup>b</sup> B corresponde a la aplicación de parche y se muestra que a las 72 h no se produjo ninguna reacción de irritación en la piel.