



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

**FACULTAD DE NUTRICIÓN**

**CINÉTICA DE CICATRIZACIÓN DEL CUACHALALATE (*Amphipterygium  
adstringens*) EN MODELOS EXPERIMENTALES CON DIABETES  
MELLITUS TIPO I Y TIPO II**

**TESIS**

**P R E S E N T A:**

**IBT. ANTARES SINHUE JIMÉNEZ MÚGICA**

Para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN**

**DIRECTOR DE TESIS:** Dr. Juan José Acevedo Fernández

**CODIRECTOR:** Dra. Gabriela Castañeda Corral

**COMITÉ REVISOR:** Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez  
Dra. Dolores Azucena Salazar Piña  
Dra. María Araceli Ortiz Rodríguez

**CUERNAVACA, MORELOS**

**Marzo, 2023**

## AGRADECIMIENTOS

A Dios en primer lugar porque Él es quien me da la fuerza y energía para poder avanzar en todos mis proyectos, porque tengo fe que Él murió por todos mis pecados y resucitó al tercer día demostrando que es Dios, en eso está mi descanso.

A mi esposa que estuvo a mi lado en todo este proceso, gracias por todo tu apoyo, tiempo, dedicación, comprensión, consejo, por estar presente en todo momento en esta etapa de mi vida. Gracias por la dicha de ser padre, a mi hijo Elías, espero ser un buen ejemplo para ti... **me llenan de mucha felicidad.**

A mis padres y familia, gracias por siempre darme palabras de aliento, de impulsarme para seguir adelante, de crear momentos de felicidad y demostrarme que con trabajo, compromiso y con la ayuda de Dios, las metas se pueden cumplir.

Al Dr. Acevedo por todo el apoyo, paciencia, consejos en momentos complicados, por escucharme y animarme a seguir adelante, muchas gracias por todo.

A la Dra. Castañeda, gracias por enseñarme y mostrarme que todo es sencillo de realizar, siempre y cuando, desde el principio, se tenga en claro lo que se va a hacer, como se va a hacer y hacerlo bien a la primera.

A Ely por estar al pendiente de las situaciones de todos, gracias por todo tu apoyo, consejo y ánimos.

A todos los compañeros y amigos que he conocido en esta etapa, gracias por esas risas, comidas, convivios, apoyos, consejos, en fin, muchas gracias por su amistad, haber compartido muchas vivencias y espero que se generen más recuerdos con ustedes.

Gracias a mi comité tutorial, Dra. Celeste, Dra. Vanesa y Dra. Margarita, por su apoyo en todo momento, su tiempo dedicado a la revisión, corrección y sugerencias en cada uno de mis escritos, así como de mis presentaciones.

Gracias mi comité revisor, por ser parte de esta última etapa de mi posgrado, les agradezco mucho su tiempo dedicado hacia este proyecto.

## RESUMEN

**Introducción:** La diabetes mellitus es un término que hace referencia a un grupo de enfermedades metabólicas caracterizada por la hiperglucemia crónica, la cual puede comprometer el funcionamiento de todos los tejidos corporales así como su proceso de reparación, conocido como cicatrización. La corteza del cuachalalate se utiliza como remedio para más de 30 enfermedades. Sin embargo, hasta el momento se desconoce su efecto en la cicatrización de heridas en modelos animales de DM.

**Objetivo:** Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hexánico de *Amphiptherygium adstringens* en modelos experimentales con diabetes mellitus tipo 1 y 2.

**Material y métodos:** Para la inducción de la herida se utilizaron ratones macho y hembra de la cepa C57BL naïve o con DMT1 inducida con estreptozotocina o con DMT2 inducida por dieta de cafetería y estreptozotocina. La herida se realizó en el dorso de cada ratón utilizando un punch para biopsia de 6 mm bajo condiciones de anestesia. Una vez realizada la herida se aplicó el tratamiento a grupos control (vehículo), Hyalo4 o extracto. El seguimiento del cierre de la herida se realizó mediante registro fotográfico. El área de la herida se midió utilizando el software Image J.

**Resultados:** Se observó un retraso en la cicatrización de los ratones con DMT1 y con DMT2. Evidenciando que la hiperglucemia presente en la DM induce alteraciones en el proceso de cicatrización. Se observó que una única aplicación

con el extracto o Hyalo4 no alteraron de forma significativa la cinética de cierre de la herida de los ratones diabéticos. Estos resultados podrían deberse a que en condiciones de DM un tratamiento agudo no es suficiente para observar efectos terapéuticos, y probablemente se requiera evaluar un tratamiento crónico.

**Conclusiones:** Los modelos murinos de DMT1 y DMT2 resultan buenos modelos para la evaluación de los mecanismos involucrados en el retraso de la cicatrización. En nuestras condiciones experimentales, el extracto hexánico del cuachalalate no presenta un efecto pro-cicatrizante en los modelos de DM.

## ABSTRACT

**Introduction:** Diabetes mellitus is a term that refers to a group of metabolic diseases characterized by chronic hyperglycemia, which can compromise the functioning of all body tissues as well as their repair process, known as scarring. The cuachalalate bark is used as a remedy for over 30 diseases. However, until now, its effect on wound healing in animal models of DM is unknown.

**Objective:** To evaluate the healing effect of the hexane extract of *Amphipterygium adstringens* in experimental models with diabetes mellitus type I and II.

**Material and methods:** For the induction of the wound, male and female mice of the C57BL naïve strain were used, or with DMT1 induced with streptozotocin, or DMT2 induced by cafeteria diet and streptozotocin. The wound was made on the back of each mouse, using a 6 mm biopsy punch under anesthetic conditions. Once the wound was made, the treatment was applied to vehicle groups, Hyalo4 or extracts. The follow-up of the wound closure was carried out by photographic record. The wound area was measured using the ImageJ software.

**Results:** A delayed healing was observed in either DMT1 or DMT2 mice, showing that hyperglycemia presented in DM induces disturbance in the healing process. It was observed that a single application with the extract or Hyalo4 did not alter significantly the kinetics of wound closure in diabetic mice. These results could be due to the fact that, in DM conditions, a severe treatment is not enough to observe therapeutic effects, and it's probably necessary to evaluate a chronic treatment.

**Conclusions:** The murine models of DMT1 and DMT2 are good models for the evaluation of the mechanisms involved in delayed healing. In our experimental conditions, the hexanic extract of cuachalalate does not exhibit a pro-healing effect in DM models.

## ÍNDICE GENERAL

1. Introducción.....	13
1.1. Diabetes mellitus.....	13
1.2. Diagnóstico de la DM.....	13
1.3. Regulación de la glucosa en sangre.....	14
1.4. Epidemiología.....	19
1.5. Prediabetes.....	24
1.6. Tipos de diabetes.....	25
1.6.1. Diabetes mellitus tipo 1 (DMT1).....	25
1.6.2. Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2).....	31
1.7. Cicatrización.....	33
1.8. Cicatrización en la DM.....	39
1.9. Antecedentes.....	40
1.10. Uso de la familia Anacardiaceae (Julianiaceae).....	41
1.11. Uso del Cuachalalate en la medicina tradicional.....	46
2. Justificación.....	51
3. Hipótesis.....	52
4. Objetivos.....	53
4.1 General.....	53

4.2	Particulares .....	53
5.	Metodología.....	53
5.1	Obtención de extractos .....	53
5.2	Animales .....	54
5.3	Inducción a DMT1.....	55
5.4	Inducción a DMT2.....	55
5.5	Cinéticas de cicatrización.....	57
5.6	Diseño experimental. ....	58
5.7	Análisis estadístico .....	60
6.	Resultados .....	60
7.	Discusiones .....	78
7.1	Cinética de cicatrización en ratones naïve, con DMT1 y DMT2. ....	78
7.2	Actividad cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 1. ....	80
7.3	Efecto cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 2. ....	83
8.	Conclusiones.....	84
9.	Bibliografía .....	84

## ABREVIATURAS

<b>DM</b>	Diabetes mellitus	<b>FADD</b>	Proteínas de dominio de muerte asociadas a fas
<b>ADA</b>	Asociación Americana de Diabetes	<b>IL-1 <math>\beta</math></b>	Interleucina-1 $\beta$
<b>OMS</b>	Organización mundial de la salud	<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Factor nuclear $\kappa$ B
<b>HbA1c</b>	Hemoglobina glucosilada	<b>PKC</b>	Proteína quinasa C
<b>GLUT</b>	Transportador de glucosa	<b>JNK</b>	Quinasa c-Jun N-terminal
<b>DMT1</b>	Diabetes mellitus tipo 1	<b>IL-1R AcP</b>	Proteína accesoria IL-1R
<b>DMT2</b>	Diabetes mellitus tipo 2	<b>Tollip</b>	Proteína de interacción Toll
<b>ECNT</b>	Enfermedades crónicas no transmisibles	<b>IL1</b>	Interleucina 1
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal	<b>IRAK</b>	Quinasas asociadas al receptor de interleucina
<b>ENSANUT</b>	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición	<b>MAPK</b>	Proteínas quinasas activadas por mitógenos
<b>OGTT</b>	Ensayo de tolerancia oral a la glucosa	<b>TRADD</b>	Proteína de dominio DEATH asociada al receptor del factor de necrosis tumoral tipo 1
<b>APC</b>	Células presentadoras de antígeno	<b>TRAF2</b>	Factor 2 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral
<b>TNF</b>	Factor de necrosis tumoral	<b>STZ</b>	Estreptozotocina
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferón $\gamma$	<b>i.p.</b>	Intraperitoneal
<b>STAT1</b>	Transductor de señal y el activador de la transcripción 1	<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>ERK</b>	Quinasa regulada por señal extracelular	<b>Ext.Hex.</b>	Extracto hexánico
<b>Jak</b>	Quinasa Janus	<b>Ext.Met.</b>	Extracto metanólico
<b>GAS</b>	Secuencia activada por interferón gamma	<b>SEM</b>	Error estándar de la media
<b>RI</b>	Resistencia a la insulina	<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>ECM</b>	Matriz extracelular	<b>ABC</b>	Área bajo la curva
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento derivado de plaquetas		

**PDGF** Platelet derived growth  
factor

**Tx** Tratamiento

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis y procesamiento de la insulina.....	16
Figura 2. Mecanismo de acción de la insulina. ....	18
Figura 3. Mecanismo de acción de la insulina para mantener la homeostasis de la glucosa en sangre.....	19
Figura 4. Adultos de entre 20 a 79 años con diabetes en el 2019 en el mundo. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 5. Prevalencia de la DM en población adulta (20-79 años) por sexo en México. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 6. Porcentaje de la población adulta (20-70 años) con diagnóstico médico previo de DM, por entidad federativa. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 7. Representación esquemática del ataque autoinmune a las células beta en la diabetes mellitus tipo 1.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 8. Transición de la homeostasis metabólica inmunitaria innata a través de una inflamación sistémica de bajo grado a una enfermedad local.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 9. Curso temporal de la reparación de una herida cutánea	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 10. Fases de la cicatrización. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 11. Cuachalalate, árbol, hojas y corteza.....	51

Figura 12. Diseño experimental de la inducción a herida..	58
Figura 13. Seguimiento de 12 semanas post-STZ..	62
Figura 14. ABC y seguimiento fotográfico a las 12 semanas post-STZ.	63
Figura 15. Seguimiento de 24 semanas post-STZ..	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 16. ABC y seguimiento fotográfico a las 24 semanas post-STZ.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 17. Seguimiento de DMT2 con 24 semanas post-STZ.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 18. Diferencia de tamaño de ratón con DE y DC.	70
Figura 19. ABC y seguimiento fotográfico a las 24 semanas post-STZ.	71
Figura 20. ABC y seguimiento fotográfico de los grupos naïve.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 21. ABC y seguimiento fotográfico de los grupos DMT1.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 22. ABC y seguimiento fotográfico de grupo con DMT2 a las 24 semanas post-STZ.	77

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios diagnósticos de la DM según la ADA 2020.....	14
Tabla 2. Principales causas de defunciones en México en el 2018. ....	23
Tabla 3. Bioactividad de la familia Anacardiaceae.. ....	42
Tabla 4. Clasificación taxonómica del cuachalalate. ....	46
Tabla 5. Uso del cuachalalate como remedio tradicional.....	47

## **1. ANTECEDENTES**

### **1.1. Diabetes mellitus**

La diabetes mellitus (DM) es un término que se utiliza para referirse a un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por la hiperglucemia crónica que resulta de defectos en la secreción de insulina, acción de insulina, o ambos. La hiperglucemia crónica se refiere al incremento de la concentración de glucosa en ayuno a valores  $\geq 126$  mg/dL y que se mantiene a largo plazo, afectando el funcionamiento de diferentes órganos, principalmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (3, 4). Los síntomas clásicos de la DM son poliuria (mayor frecuencia al orinar o aumento en la micción), polifagia (hambre excesiva) y polidipsia (sed excesiva), asimismo se presenta una pérdida de peso severa y otras veces visión borrosa (5, 6)

### **1.2. Diagnóstico de la DM**

La Asociación Americana de la Diabetes (ADA) así como la Organización Mundial de la Salud (OMS) han adoptado diversos criterios que se utilizan para el diagnóstico de la DM. Estos incluyen los síntomas clásicos, la concentración de glucosa en sangre, la concentración de glucosa en sangre 2 horas después de la administración oral de una carga de glucosa o curva de tolerancia oral a la glucosa y el nivel de hemoglobina glucosilada (HbA1c) (7), estos criterios se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1. Criterios diagnósticos de la DM según la ADA 2020. Modificada de (8)**

<ul style="list-style-type: none"><li>• Glucosa plasmática en ayuno <math>\geq 126</math> mg/dL (7.0 mmol/L). Con ayuno de 8 horas.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Glucosa plasmática de 2 horas <math>\geq 200</math> mg/dL (11.1 mmol/L) durante una curva de tolerancia oral a la glucosa después de ingerir 75 g de glucosa anhidrida disuelta en agua.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Hemoglobina glucosilada (HbA1C) <math>\geq 6.5\%</math> (48 mmol/L).</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Pacientes con síntomas clásicos de hiperglucemia, una glucosa casual <math>\geq 200</math> mg/dL (11.1 mmol/L).</li></ul>

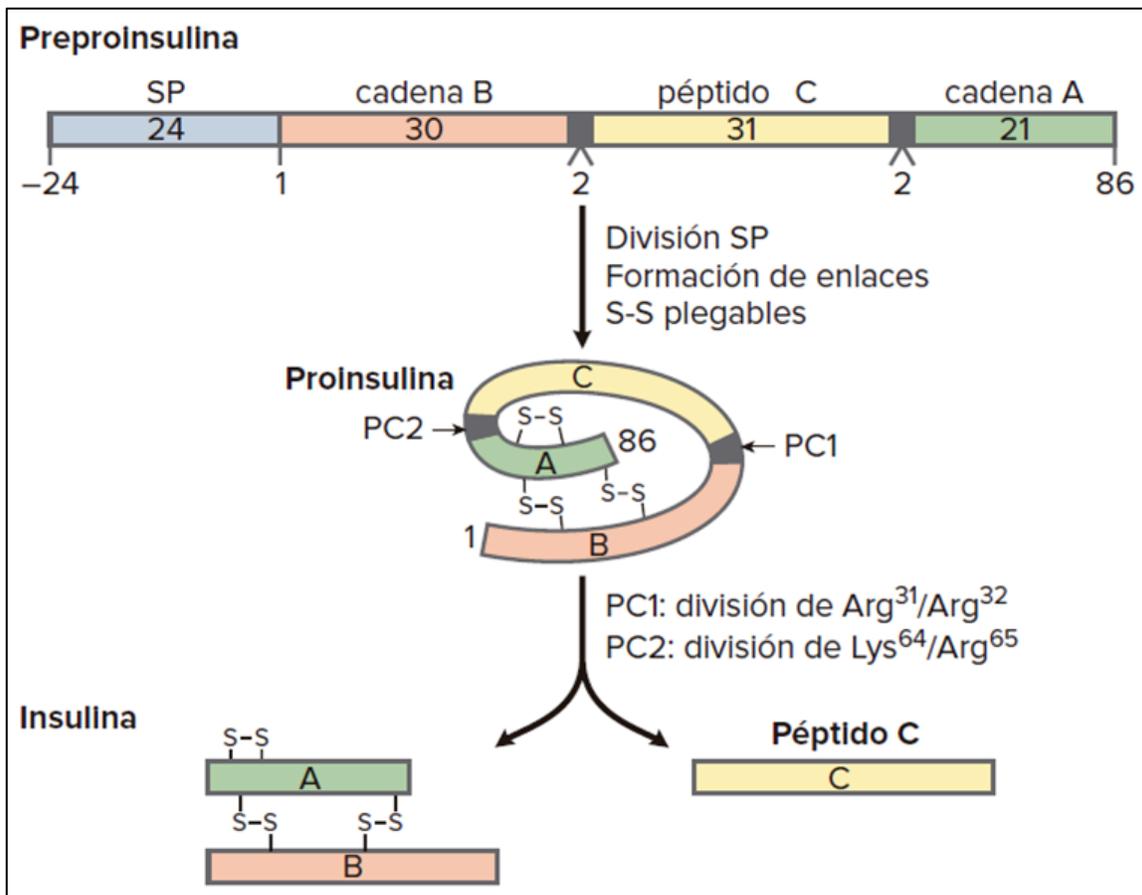
Para un diagnóstico inequívoco de DM es necesario realizar más de un criterio diagnóstico en días diferentes para descartar que haya sido un evento agudo (9).

### **1.3. Regulación de la glucosa en sangre**

A través de diferentes estudios se ha descubierto que existe diferentes defectos metabólicos en la DM sin importar de que tipo sea, estos estudios están enfocados principalmente a la metabolómica, lipidómica, proteómica (10-15) y la homeostasis de la glucosa (16-18), este último es el principal defecto que se encuentra en cualquier tipo de DM. La hiperglucemia es el principal fenómeno etiopatogénico que favorece el desarrollo de las complicaciones agudas y crónicas de este padecimiento. Sin embargo, existen otras alteraciones metabólicas concomitantes, como las dislipidemias, que contribuyen importantemente en la progresión de ciertas complicaciones (19).

El mantenimiento de la homeostasis de la glucosa o tolerancia a la glucosa, es un proceso sistémico altamente regulado que requiere de la participación de varios órganos y sistemas que desempeñan un papel fundamental. Aunque las acciones de la insulina son de gran importancia, también lo son las redes de comunicación que se establecen entre los diferentes órganos mediante la acción de hormonas, nervios, factores locales y sustratos. Las células  $\beta$ -pancreáticas desempeñan un papel central en este proceso homeostático ya que regulan de un modo muy preciso la cantidad de insulina que se secreta para promover la absorción de glucosa después de las comidas, y regular la cantidad de glucosa que sale del hígado durante los periodos de ayunos (7, 20).

La insulina es sintetizada inicialmente como una cadena sencilla de polipéptido, preproinsulina (110 aminoácidos), que es procesada primero a proinsulina y después a insulina y péptido C (Figura 1). Este complejo y altamente regulado proceso involucra al complejo de Golgi, el retículo endoplásmico y los gránulos secretorios de las células  $\beta$ . Los gránulos secretorios son esenciales para la división y procesamiento de la prohormona hasta llegar a los productos finales de la secreción, insulina y péptido C (7, 21).

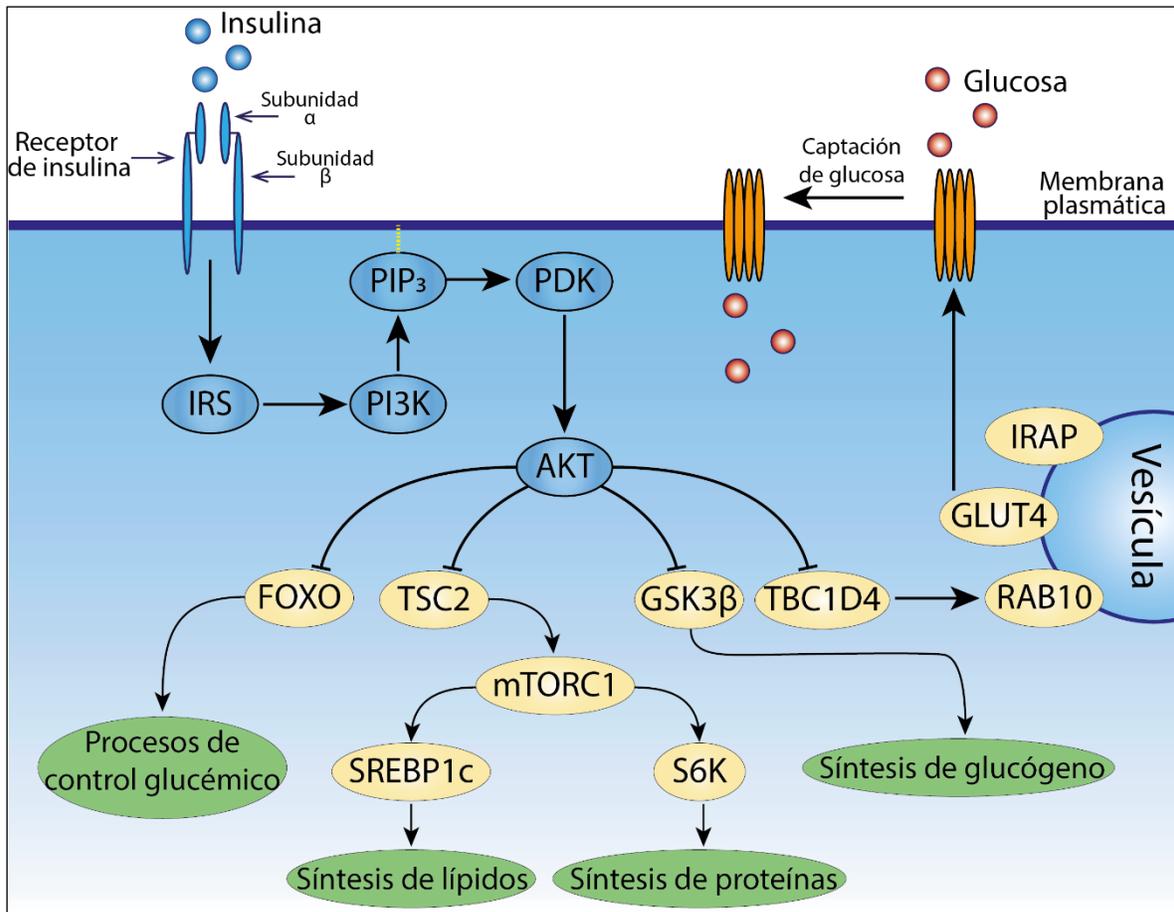


**Figura 1. Síntesis y procesamiento de la insulina.** El polipéptido inicial o preproinsulina está conformado por un péptido señal (SP), la cadena A, la cadena B, y el péptido C. El SP se escinde y se forman los puentes disulfuro (S-S) que dan lugar a una estructura en pliegues que forman la proinsulina. Dos convertasas de la prohormona, PC1 y PC2, rompen la proinsulina en dos dipéptidos, la insulina y el péptido C. La insulina y el péptido C se almacenan en gránulos y se co-secretan en cantidades equimolares. Tomado de Alvin C. 2019 (7)

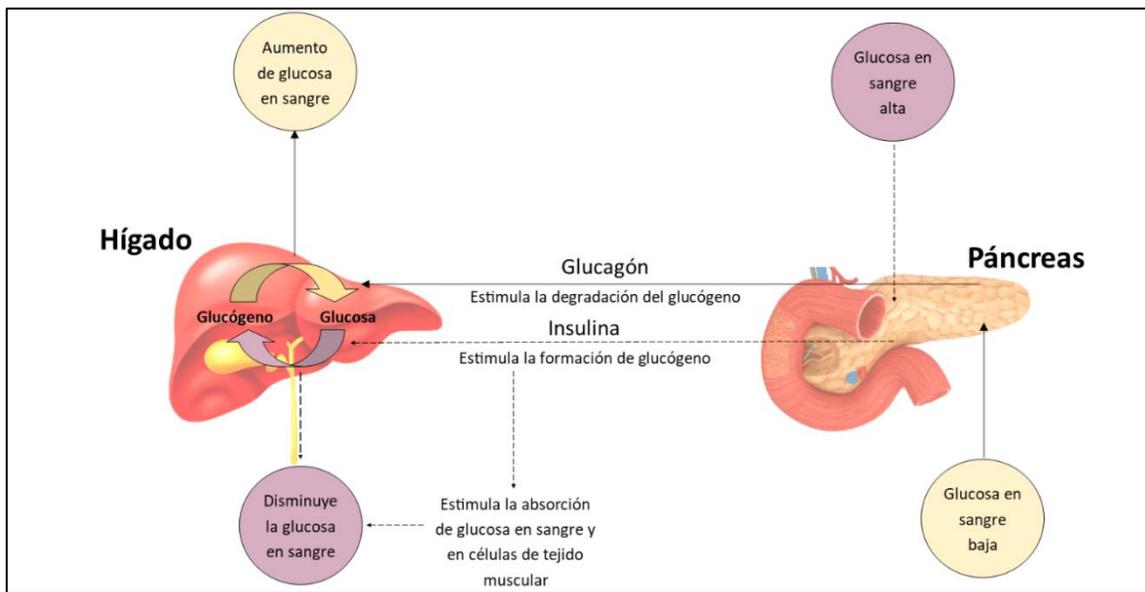
La insulina se une al receptor de insulina tirosina quinasa, que está formado por dos subunidades  $\alpha$  (extracelular) y dos subunidades  $\beta$  (intramembranal) unidas por enlaces disulfuro (Figura 2). La unión de la insulina a la subunidad  $\beta$  del receptor de insulina tirosina quinasa promueve la autofosforilación de la subunidad  $\beta$ . La insulina le indica al hígado que convierta el exceso de glucosa en glucógeno para su

almacenamiento; también hace que otras células del cuerpo (células del músculo esquelético y tejido adiposo) absorban más glucosa mediante la translocación del transportador de glucosa (GLUT4) a la superficie celular (Figura 3). Esto ayuda a llevar las concentraciones de glucosa circulante a niveles normales. Cuando la concentración de glucosa en la sangre es baja, las células  $\alpha$  del páncreas son estimuladas para liberar glucagón. El glucagón es una hormona peptídica, cuya principal función es estimular la producción de glucosa a través del hígado y se libera en la sangre para lograr la homeostasis en condiciones de ayuno (22-24).

El glucagón indica al hígado que convierta el glucógeno almacenado en glucosa que se libera en la sangre para lograr la homeostasis. En la diabetes, hay una aberración en la síntesis o en la secreción de insulina como se observa en la diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) y estenosis en el conducto pancreático, o el desarrollo de resistencia a la insulina o su producción subnormal como en el caso de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (22, 25).



**Figura 2. Mecanismo de acción de la insulina.** La unión de la insulina a la subunidad  $\alpha$  del receptor de insulina favorece la dimerización del receptor y su autofosforilación mediante el dominio con actividad de tirosina cinasa de la subunidad  $\beta$ , provocando la fosforilación de IRS y permitiendo la unión de la cinasa lipídica PI3K, que sintetiza  $\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$  (PIP<sub>3</sub>) en la membrana plasmática. Esto recluta a la cinasa dependiente de fosfoinosítidos (PDK), que fosforila directamente AKT. El AKT activado fosforila una serie de sustratos en los residuos Ser/Thr. Estos incluyen: los factores de transcripción de la familia forkhead box O (FOXO); la proteína esclerosis tuberosa 2 (TSC2), que permite la activación de mTORC1 y de sus objetivos posteriores, la proteína ribosomal S6 quinasa (S6K) y la proteína de unión al elemento regulador del estero 1c (SREBP1c); la glucógeno sintasa quinasa 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) y el miembro de la familia del dominio RabGAP TBC1 4 (TBC1D4). Estas proteínas efectoras median los efectos de la insulina en la producción, utilización y captación de glucosa, así como en la síntesis de glucógeno, proteínas y lípidos. Modificado de Haeusler et al., 2018 (26)



**Figura 3. Mecanismo de acción de la insulina para mantener la homeostasis de la glucosa en sangre.** La concentración de insulina actúa como señal para indicarle al hígado que convierta el exceso de glucosa en glucógeno para su almacenamiento o bien estimule su captación por otras células del cuerpo cuando se produce un incremento de glucosa en el torrente sanguíneo. Por otro lado, cuando las concentraciones de glucosa son bajas, se produce la liberación de glucagón para estimular la degradación de glucógeno. Modificado de Kaul et al., 2012 (22)

#### 1.4. Epidemiología

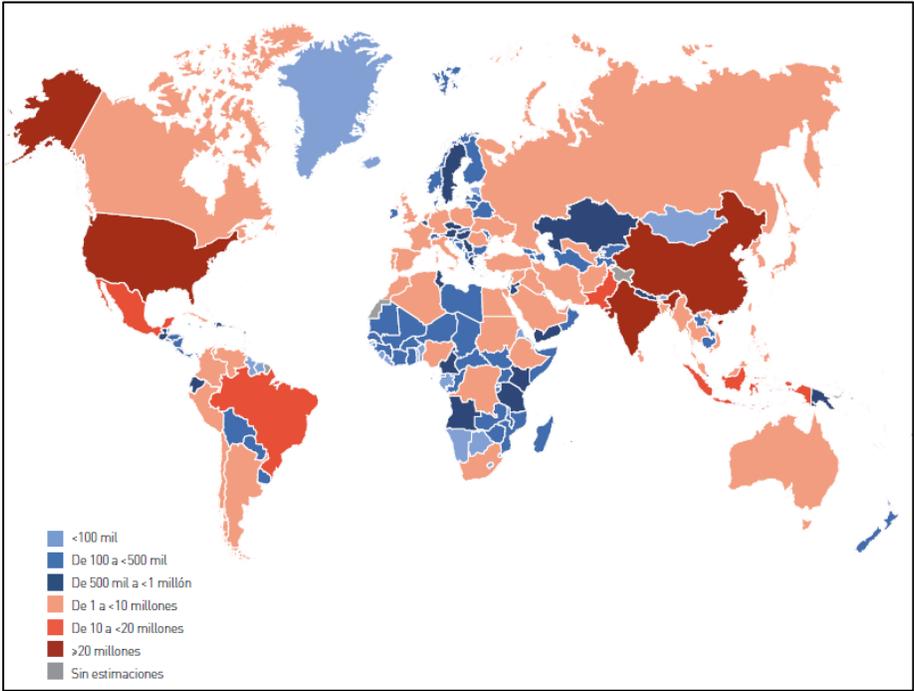
En el 2016, la Organización Mundial de la Salud (OMS) presentó un informe mundial acerca la diabetes en donde deja claro que esta enfermedad es un problema de salud pública y una de las cuatro enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) seleccionadas por los dirigentes mundiales para intervenir con carácter prioritario debido a que en las últimas décadas ha aumentado el número de casos (27).

Existen varias razones por las cuales la DM es considerada una de las ECNT a la cual se le debe de priorizar en importancia, una de ellas es la económica, ya que, si una persona con DM no se cuida o no se detecta a tiempo, puede llegar a perder

alguna extremidad, reduciendo con esto sus posibilidades de encontrar un trabajo. Hablando del sector salud de cada país, la DM genera los mayores gastos en este rubro, ya que como se ha mencionado con anterioridad, al tener hiperglucemia crónica también se ven afectados otros órganos del cuerpo generando ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia renal, amputación de piernas, pérdida de visión y daños neurológicos. Durante el embarazo, si la diabetes no se controla de forma adecuada, aumenta el riesgo de muerte fetal y otras complicaciones (27, 28).

En el 2012, Ramachandran et al., realizó una investigación donde menciona que más del 60% de la población diabética del mundo provienen de países asiáticos, ya que los asiáticos están predispuestos genética y étnicamente a la diabetes, teniendo una baja tolerancia a los factores de riesgo ambientales. También menciona que los asiáticos desarrollan diabetes con un índice de masa corporal (IMC) más bajo, así como con una circunferencia de cintura más pequeña, en comparación con la población occidental, y tienen una edad de inicio más joven para la diabetes (28, 29).

Se calcula que 463 millones de adultos de entre 20 y 79 años de edad en todo el mundo tienen diabetes, 79.4% viven en países de ingresos bajos y medios (Figura 4). Según los cálculos de 2019, para 2030 se prevé que 578.4 millones de adultos de entre 20 y 79 años tendrán diabetes; asimismo, para 2045 la cifra aumentaría a 700.2 millones.



**Figura 4. Adultos de entre 20 a 79 años con diabetes en el 2019 en el mundo.** Tomada de la Federación Internacional de Diabetes 2019.

En el caso específico de México, los resultados que nos proporciona la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en el 2018 (30), nos menciona que del 2012 al 2018 el porcentaje de personas que padecen DM en México pasó de 6.4 millones a 8.6 millones de personas en una población de 20 años en adelante (Figura 5). De igual forma nos muestra un mapa de la república mexicana donde se

puede apreciar cuál es el porcentaje de la población con DM diagnosticada por entidad federativa (Figura 6).

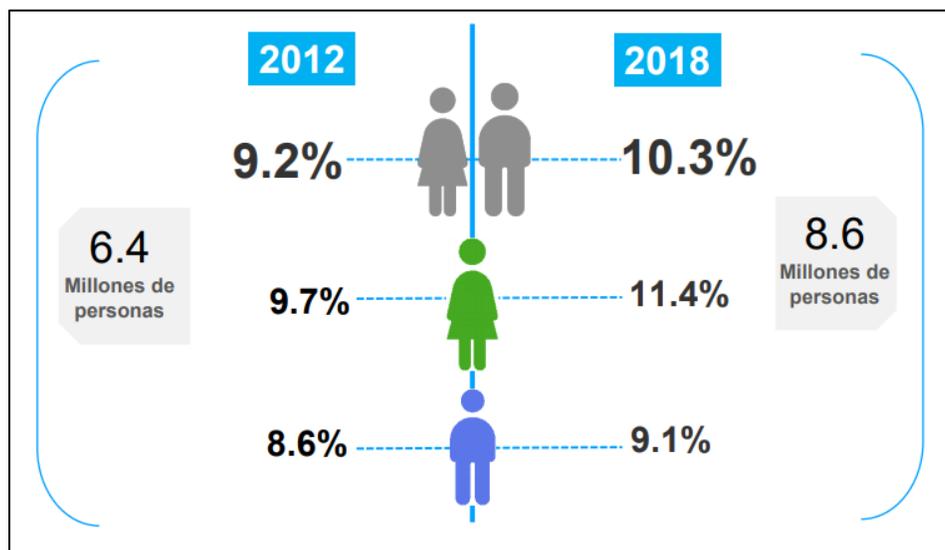


Figura 5. Prevalencia de la DM en población adulta (20-años o más) en México. Tomada de ENSANUT, 2018.

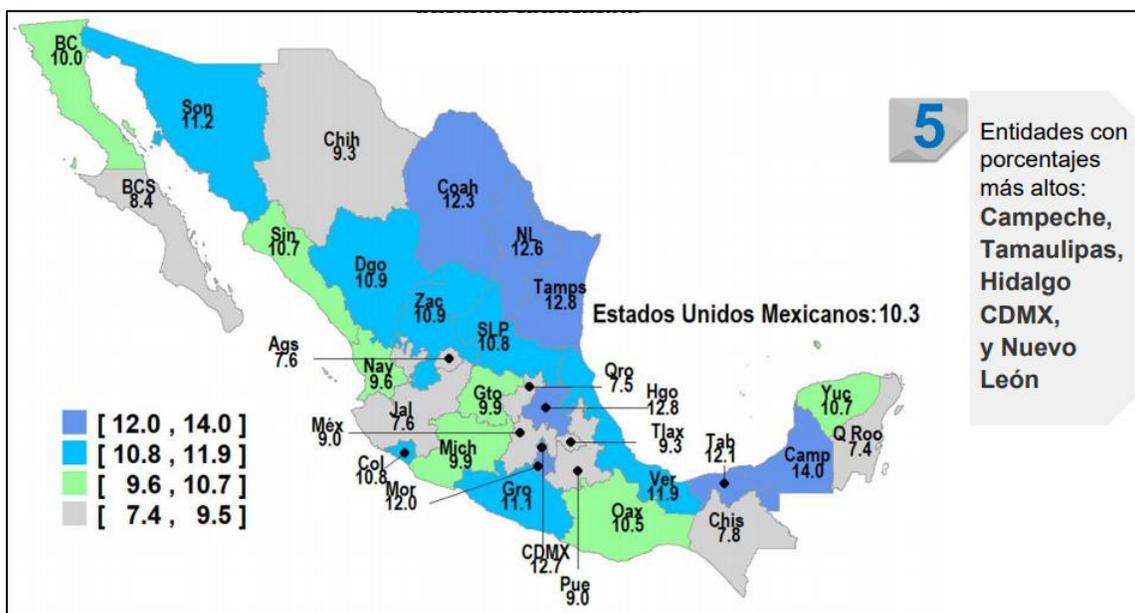


Figura 6. Porcentaje de la población adulta (20 o más) con diagnóstico médico previo de DM, por entidad federativa. Tomada de ENSANUT, 2018

La Secretaría de Salud, a través de su página de internet (31) da a conocer las principales causas de defunciones por año en México. Las 5 principales causas de defunciones en el 2018 fueron las enfermedades del corazón, la DM, tumores malignos, enfermedades del hígado y enfermedades cerebrovasculares (Tabla 2). Como se mencionó antes, la OMS menciona otras enfermedades que se producen por causa de la DM: relacionadas con ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares, por lo que en podemos deducir que es probable que la DM en México sea la principal causa de muertes en México.

**Tabla 2. Principales causas de defunciones en México en el 2018.**

<i>Principales Causas</i>	<i>Total</i>
Enfermedades del corazón	146,923
Diabetes mellitus	100,350
Tumores malignos	85,011
Enfermedades del hígado	38,563
Enfermedades cerebrovasculares	34,931
Accidentes	32,075
Agresiones (homicidios)	31,656
Neumonía e influenza	27,766
Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	23,219
Insuficiencia renal	13,710
Ciertas afecciones originadas en el período perinatal	11,943
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	8,929
Desnutrición y otras deficiencias nutricionales	6,931
Lesiones autoinfligidas intencionalmente (suicidios)	6,470
Enfermedad por virus de la inmunodeficiencia humana	4,975
Sepsis	4,826
Bronquitis crónica, enfisema y asma	4,512
Enfermedades infecciosas intestinales	3,435
Anemias	3,297
Úlceras gástrica y duodenal	2,640
Mal definidas	8,789
Las demás causas	103,852
Nacional	704,803

## 1.5. Prediabetes

La prediabetes es un término utilizado para describir el período de amortiguación antes del inicio de la DMT2, donde el nivel de azúcar en sangre es más alto de lo normal pero más bajo que los criterios de diagnóstico de la DMT2. La función celular alterada y el aumento de la resistencia a la insulina son dos vías patológicas que conducen a la prediabetes y, posteriormente, a la diabetes (28).

El término prediabetes en sí mismo ha sido criticado sobre la base de que muchas personas con prediabetes no progresan a diabetes, el término puede implicar que no es necesaria ninguna intervención ya que no hay enfermedad presente, y el riesgo de diabetes no necesariamente difieren entre personas con prediabetes y aquellas con una combinación de otros factores de riesgo de diabetes. De hecho, la OMS utilizó el término “Hiperglucemia intermedia” y un Comité Internacional de Expertos convocado por la ADA describió el “Estado de alto riesgo de desarrollar diabetes” en lugar de “prediabetes” (32).

Si bien la prediabetes no es considerada una enfermedad como tal, resulta ser un parámetro para prevenir el desarrollo de la DM en las personas.

Según un panel de expertos de la ADA, hasta el 70% de las personas con prediabetes eventualmente desarrollarán diabetes. En un ensayo chino de prevención de la diabetes, la incidencia acumulada de diabetes a 20 años fue incluso mayor (> 90%), identificada con una prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT). En comparación, se ha sugerido que las mujeres con diabetes gestacional

tienen de un 20% - 60% de riesgo de desarrollar diabetes entre 5 y 10 años después del embarazo. Esta gran heterogeneidad en las estimaciones probablemente se deba a la variación en los criterios utilizados para definir la diabetes gestacional y la DMT2 en estos estudios. En un metaanálisis de 20 estudios que se hicieron en el 2009, el 13% de las madres con diabetes gestacional desarrollaron diabetes después del embarazo en comparación con el 1% de las madres sin diabetes gestacional (32).

## **1.6. Tipos de diabetes**

Existen varios tipos de DM, los más conocidos son la DM tipo 1 (DM1) y la DM tipo 2 (DM2), aún que existen más tipos, en este estudio se hará un mayor énfasis a las 2 primeras.

### *1.6.1. Diabetes mellitus tipo 1 (DMT1)*

La DMT1 es causada por una reacción autoinmunitaria en la que el sistema inmunológico del organismo ataca a las células  $\beta$  del páncreas que producen insulina. Como consecuencia, el cuerpo no produce insulina o la cantidad que produce no es suficiente. Aunque no se entienden totalmente las causas de este proceso, una explicación probable es que la reacción autoinmune se origine a raíz de la combinación de una sensibilidad genética (que se atribuye a una gran cantidad de genes) y un desencadenante ambiental, como una infección vírica. También se ha implicado a algunas toxinas o factores alimenticios. La DMT1 puede aparecer a cualquier edad, aunque ocurre con mayor frecuencia en niños y en jóvenes. Este

tipo de diabetes es una de las enfermedades crónicas más comunes en la infancia (33, 34).

Además del ataque a células  $\beta$ , DiMeglio, et al (2018) menciona que, de este trastorno autoinmune, también está involucrado una interacción compleja entre factores ambientales, el genoma, el metabolismo y sistemas inmunes que varían entre cada individuo (3, 35). Además, los síntomas clásicos asociados con el inicio de la DMT1 son la polidipsia (necesidad exagerada y urgente de beber), la polifagia (sensación imperiosa e incontenible de hambre) y la poliuria (producción anormal de grandes cantidades de orina) (36).

Independientemente de su etiología, la alteración inmunológica determinante de la DMT1 requiere: a) la expansión de clones linfocitarios autorreactivos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>; b) la existencia de linfocitos B productores de anticuerpos, y c) la activación del sistema inmunitario innato para la destrucción de las células  $\beta$  (3).

La existencia de linfocitos T autorreactivos son fundamentales para la iniciación del proceso patogénico. Inicialmente, el páncreas es infiltrado por células dendríticas y macrófagos y, poco después o simultáneamente, se produce la llegada de linfocitos T desde los ganglios linfáticos próximos, con lo que se inicia un proceso de amplificación con generación de nuevos autoantígenos y linfocitos T e infiltración de monocitos. Las células T pueden reconocer autoantígenos similares a los anticuerpos (insulina, GAD) o transportador de zinc.

La DMT1 sigue un proceso autoinmune de progresión lenta antes de presentar los síntomas clínicos típicos y el estilo de vida de la persona, estos factores van desde la inactividad física, antecedentes de diabetes en la familia, el tipo de dieta que se esté llevando y un estilo de vida con estrés crónico. Todos estos factores, y a través de una cascada de secuencias inmunológicas, da como resultado la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  pancreáticas (37, 38). Esta destrucción autoinmune sigue la siguiente cascada de señalización (Figura 7):

- A. Después de las primeras etapas de la insulinitis, las APC locales activadas reclutan y activan las células T auxiliares  $CD4^+$  a través de la migración a los ganglios linfáticos pancreáticos para presentar el antígeno de las células  $\beta$  y liberar quimiocinas/citocinas (Figura 7A).
- B. Las células T auxiliares  $CD4^+$ , a su vez, estimulan la secreción de APC de citocinas y óxido nítrico (Figura 7B).
- C. Las citocinas inducen la secreción de quimiocinas por las células endoteliales, que mejoran el reclutamiento de células inmunitarias en los islotes y activan las células T citotóxicas  $CD8^+$  junto con las citocinas (Figura 7C).
- D. Las células  $\beta$  también secretan quimiocinas en respuesta a una infección viral o citocinas, lo que mejora el reclutamiento y la activación de las células inmunes. Las células  $CD8^+$  activadas a su vez inducen la apoptosis de las células  $\beta$  (Figura 7D).

- E. Vía Fas: Fas (CD 95), un miembro de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF), se activa mediante la unión de Fas L (CD 178). Fas y Fas L se detectan, respectivamente, en la superficie de células  $\beta$  y células T que se infiltran en islotes. Una vez activado, Fas trimeriza y recluta proteínas de dominio de muerte asociado a Fas (FADD), que recluta pro-caspasa-8, lo que lleva a su activación por autoescisión. La caspasa-8 activada posteriormente escinde el efector caspasa-3 o activa la proteína BH3 Bid (Figura 7E).
- F. El sistema perforina / granzima: perforina y granzima están contenidos en gránulos dentro de las células T CD8<sup>+</sup>. La perforina participa en la formación de poros a través de las membranas a través de mecanismos dependientes de Ca<sup>2+</sup>. El poro permite la entrada de la serina proteasa granzima dentro de la célula, provocando la escisión y activación de varios objetivos, como el efector caspasa-3 y la proteína BH3 Bid (Figura 7F).
- G. La interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) activa el factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) y las quinasas proteína C (PKC), p38 y quinasa c-Jun N-terminal (JNK). La unión de IL-1 $\beta$  a su receptor induce la formación de un complejo multiproteico en su dominio citoplásmico, incluida la proteína accesoria IL-1R (IL-1R AcP), la proteína de interacción Toll (Tollip), el gen de respuesta primaria de diferenciación mielóide 88 (MyD88) y la IL- 1 familia de quinasas asociadas al receptor (IRAK), a saber, IRAK-1 e IRAK-4 (Figura 7G).
- H. TNF- $\alpha$  activa la caspasa-8, NF- $\kappa$  $\beta$  y la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) p38 y JNK. La activación del receptor 1 de TNF (TNF-R1) tras la unión de TNF- $\alpha$  conduce a su trimerización y reclutamiento de la

proteína adaptadora del dominio DEATH asociada al TNF (TRADD), que a su vez recluta el factor 2 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral (TRAF-2) y serina-treonina quinasa Rip. TRAF-2 activa las vías NF- $\kappa$ B y MAPK. El TNF- $\alpha$  fosforila y activa p38 y JNK. La caspasa-8 activa el efector caspasa-3 de la misma manera en la vía Fas (Figura 7H).

- I. El interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) activa el transductor de señal y el activador de la transcripción 1 (Stat-1) y la quinasa regulada por señal extracelular (ERK). La unión de IFN- $\gamma$  a su receptor induce su oligomerización y reclutamiento citoplásmico de dos miembros de la familia de quinasas Janus (Jak), Jak1 y Jak2, que reclutan Stat-1 y desencadenan su activación por fosforilación. Stat-1 luego se homodimeriza y migra al núcleo donde regula la expresión de elementos de la secuencia activada por interferón gamma (GAS), como caspasas, Fas y óxido nítrico sintasa inducible (39) (Figura 7I). En esta teoría, la caspasa-8 activada escinde y activa la caspasa-3 efectora y la proteína BH3 Bid en la vía (E) Fas y la vía (H) TNF- $\alpha$  y en parte en (I) la vía IFN- $\gamma$ .

Esta cascada de señalización muestra de una manera gráfica la forma en que todas las vías están involucradas en esta respuesta autoinmune, esto es de gran utilidad para seguir estudiando los mecanismos de acción que podrían seguir los medicamentos utilizados para el control de la diabetes.

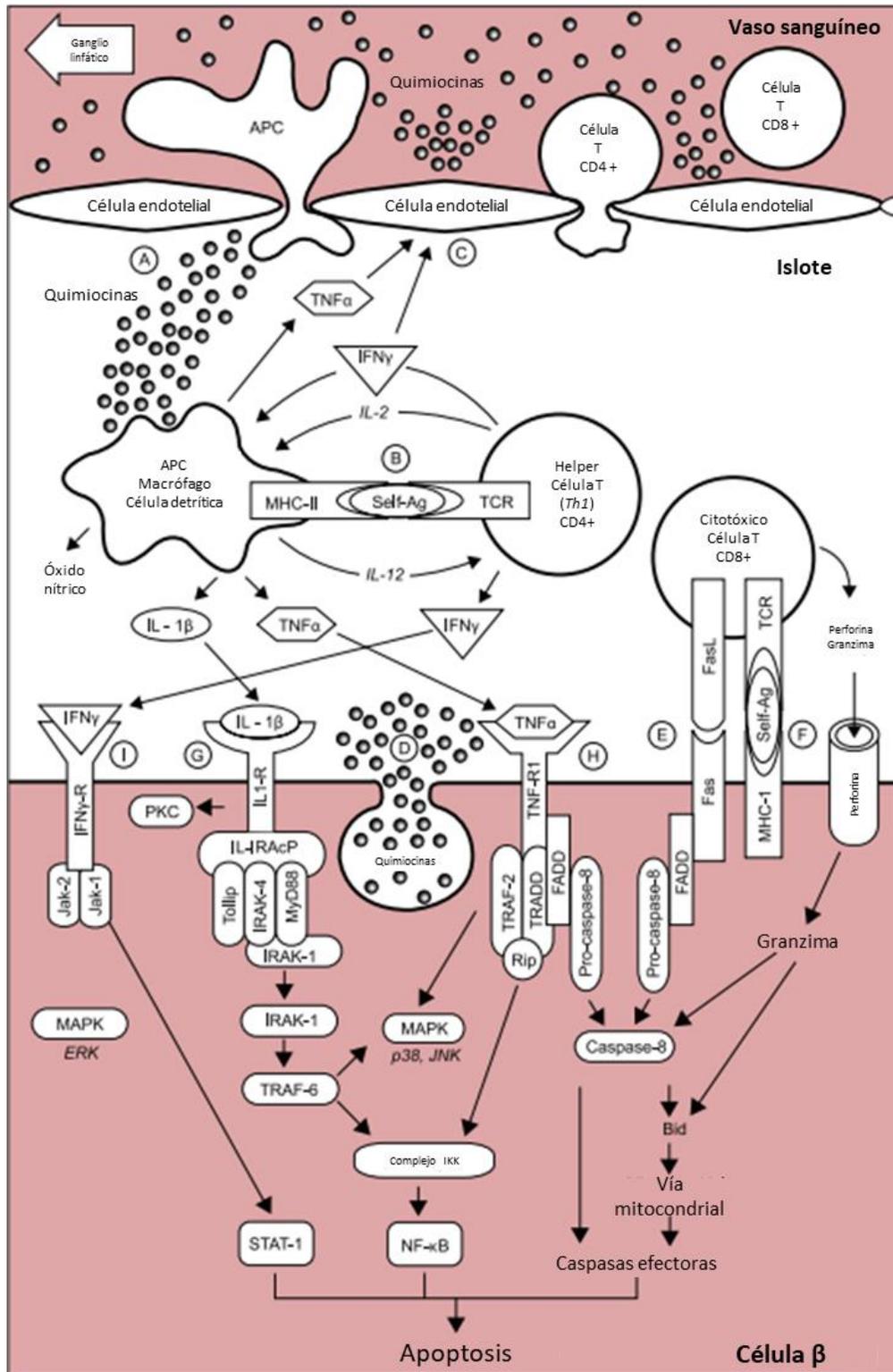


Figura 7. Representación esquemática del ataque autoinmune a las células beta en la diabetes mellitus tipo 1. Modificado de Tomita T. 2017

### 1.6.2. *Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2)*

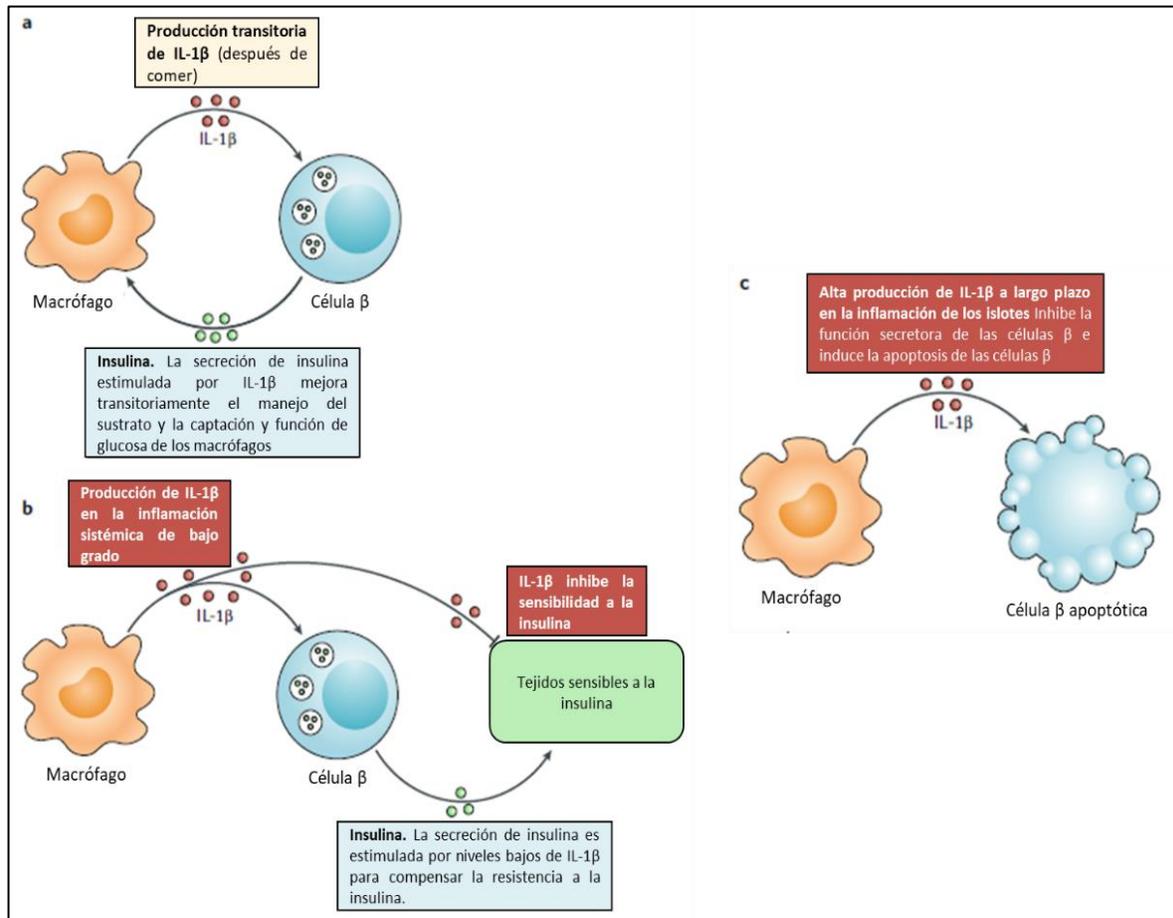
La DMT2 es la forma más prevalente de la diabetes, y el riesgo de desarrollarla aumenta con la edad, la obesidad y el sedentarismo (3).

Este tipo de DM está causado por la respuesta inadecuada de las células  $\beta$  pancreáticas al aumento de resistencia insulínica típicamente asociada con el envejecimiento, la obesidad y el sedentarismo. En un contexto de balance energético positivo y obesidad se produce la expansión y el almacenamiento de grasa en el tejido adiposo. Sin embargo, la acumulación excesiva de grasa puede llevar a la disfunción y al agotamiento de la capacidad de almacenamiento del tejido adiposo. La grasa que no se puede almacenar en el tejido adiposo produce un efecto inflamatorio en este órgano. Se caracteriza por la infiltración de macrófagos que liberan citocinas proinflamatorias que contribuyen al desarrollo de resistencia a la insulina (RI) no sólo en el tejido adiposo, sino también en órganos periféricos como el músculo o el hígado. Además de las citocinas, el fracaso de la capacidad de almacenamiento de grasa en el tejido adiposo hace que el exceso de lípidos se acumule de manera ectópica en músculo, hígado y célula  $\beta$  (3).

Por tanto, la glucotoxicidad en los islotes (es decir, la secreción reducida de insulina en respuesta a concentraciones de glucosa elevadas crónicamente) y la resistencia a la insulina en el hígado y la grasa, son mecanismos de defensa que ayudan a evitar la sobrecarga de nutrientes de las células. Aunque la exposición a corto plazo a IL-1 $\beta$  derivada de macrófagos puede estimular la secreción de insulina, la

exposición a largo plazo a IL-1 $\beta$  puede conducir al agotamiento de las células  $\beta$  y es un potente estímulo proapoptótico (Figura 8) (40).

Dentro de la DMT2 podemos encontrar dos grupos: 1) No asociado a la obesidad, y 2) Asociado a la obesidad (41).



**Figura 8. Transición de la homeostasis metabólica inmunitaria innata a través de una inflamación sistémica de bajo grado a una enfermedad local.** A) Después de las comidas, los niveles bajos transitorios de producción de IL-1 $\beta$  ayudan a estimular la secreción de insulina. B) En estados de inflamación sistémica, los niveles bajos de IL-1 $\beta$  circulante causan resistencia a la insulina, pero la IL-1 $\beta$  también ayuda a estimular la hipersecreción compensadora de insulina en las células  $\beta$ . C) En el caso de la inflamación local dentro de los islotes, las altas concentraciones intracelulares de IL-1 $\beta$  desencadenan disfunciones de las células  $\beta$  y apoptosis (modificado de Donath MY, et al. 2019).

## **1.7. Cicatrización**

La cicatrización involucra la interacción de una cascada celular compleja y reacciones bioquímicas indispensables para la restauración estructural y funcional de la piel (42). Esto evita que agentes ajenos al cuerpo puedan causar un daño al organismo cuando se ha sufrido una ruptura en su epitelio.

En la Figura 9 se muestra el curso temporal de las fases o eventos que ocurren durante la cicatrización, así como la participación de algunas poblaciones celulares en este proceso. Entre los eventos principales podemos mencionar a la formación del coágulo hemostático que se forma para evitar o reducir la pérdida de sangre durante la lesión; la liberación de factores de crecimiento indispensables para las fases de proliferación celular; el depósito y el entrecruzamiento de colágeno para la formación de la cicatriz. El fenómeno cicatrizante generalmente se divide en 3 fases: inflamación, proliferación y remodelación (43) (Figura 10). La fase inflamatoria puede durar hasta 4 días, seguida por la fase proliferativa que puede durar hasta 3 semanas y por último la fase de remodelación que puede permanecer durante años (44).

### **Inflamación**

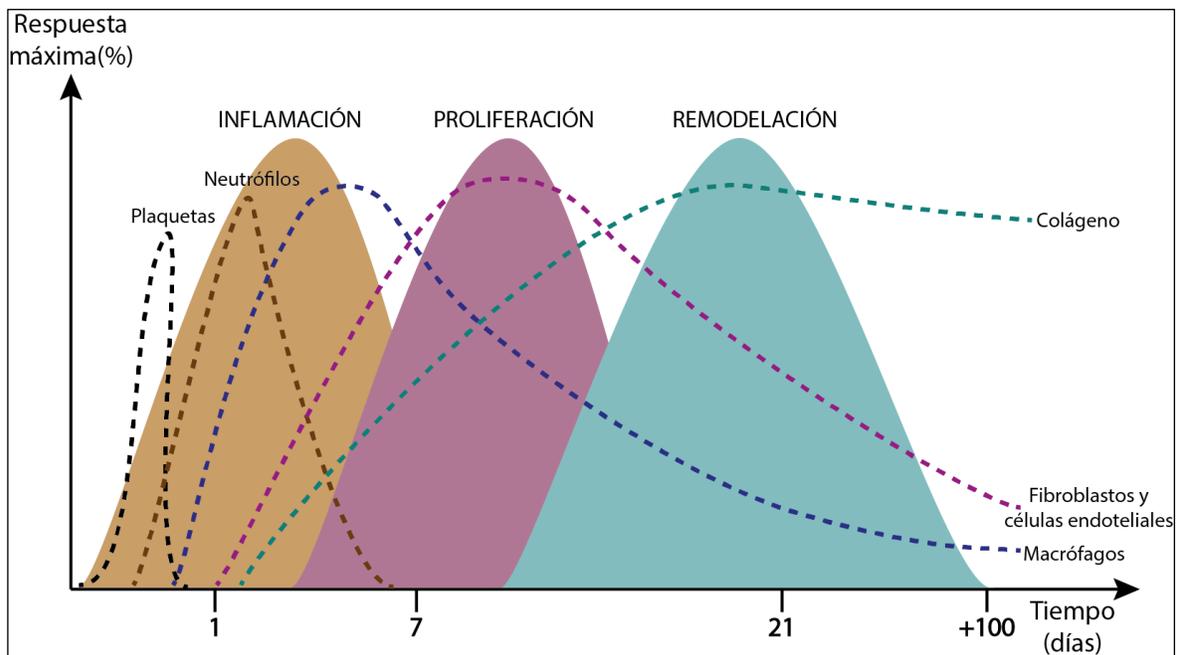
La fase inicia en el momento que surge la ruptura en el epitelio, tiene una duración promedio de 4 días o más dependiendo la herida o los mecanismos involucrados.

Al momento de presentarse la herida, la fase inflamatoria se distingue por 5 síntomas (45), las cuales son:

**Vasoconstricción**, inicia en los vasos sanguíneos locales para reducir o detener la pérdida de sangre. Después se genera una vasodilatación para aumentar el flujo sanguíneo y con esto permitir la llegada de células inmunes (granulocitos, macrófagos, monocitos, linfocitos T y B).

**Coagulación** del líquido en los espacios intersticiales por grandes cantidades de fibrinógeno y otras proteínas salientes de los capilares.

**Aumento en la permeabilidad de los capilares**, lo que permite la fuga de grandes cantidades de líquido hacia los espacios intersticiales para que las células de la respuesta inmune puedan llegar a la zona dañada.



**Figura 9. Curso temporal de la reparación de una herida cutánea.** A partir de la herida se activan diversos mecanismos celulares y bioquímicos que están estrechamente relacionados (figura modificada de Zomer HD, 2018).

**Migración de un gran número de granulocitos y monocitos al tejido**, esto con la finalidad de atacar a las bacterias que estén presentes en la herida y así evitar una infección.

**Tumefacción de las células tisulares.** Algunos de los productos tisulares que provocan estas reacciones son la histamina, la bradicinina, la serotonina, las prostaglandinas, algunos productos de reacción del sistema del complemento, los productos de reacción del sistema de coagulación de la sangre, sustancias llamadas linfocinas, que liberan los linfocitos T sensibilizados. Varias de estas sustancias también sirven como quimioatrayentes del sistema macrófagos y en pocas horas los macrófagos empiezan a fagocitar los tejidos destruidos.

En principio podemos mencionar que la inflamación otorga un efecto de división debido a que aísla la zona dañada del resto de los tejidos, para describir este efecto contamos con cuatro líneas de defensa a partir de la generación de una herida: 1) Los macrófagos locales suelen ser la primera línea de defensa (en pequeñas concentraciones) ante una infección debido que muchas de estas células son sésiles y pierden sus inserciones ante una señalización para volverse móviles; 2) La segunda línea de defensa son los neutrófilos, los cuales realizan la migración del torrente sanguíneo a las paredes de los capilares que se encuentran en la zona de la herida, con esto se logra que los neutrófilos lleguen a la zona de infección a través de la quimiotaxis y se produce una neutrofilia; 3) La invasión de los macrófagos sistémicos son la tercera línea de defensa. Cuando se produce una herida, los monocitos y neutrófilos salen de los capilares para poder llegar a la herida, es

cuando los monocitos aumentan de tamaño (aproximadamente en 8 horas) hasta llegar a madurar y convertirse en macrófagos; 4) la última fase es la mayor producción de granulocitos y monocitos en la médula ósea, esto se debe a la estimulación de células precursoras en la médula ósea, pero transcurren de 3 a 4 días para que puedan salir (45).

La coagulación y la cascada de complemento se inician, con esto el sistema inmunológico podrá realizar las acciones necesarias para reparar el daño hecho, las plaquetas convertirán la protrombina en trombina y el fibrinógeno en fibrina, con estos acontecimientos se obtiene una polimerización que hace más estable el tejido (45).

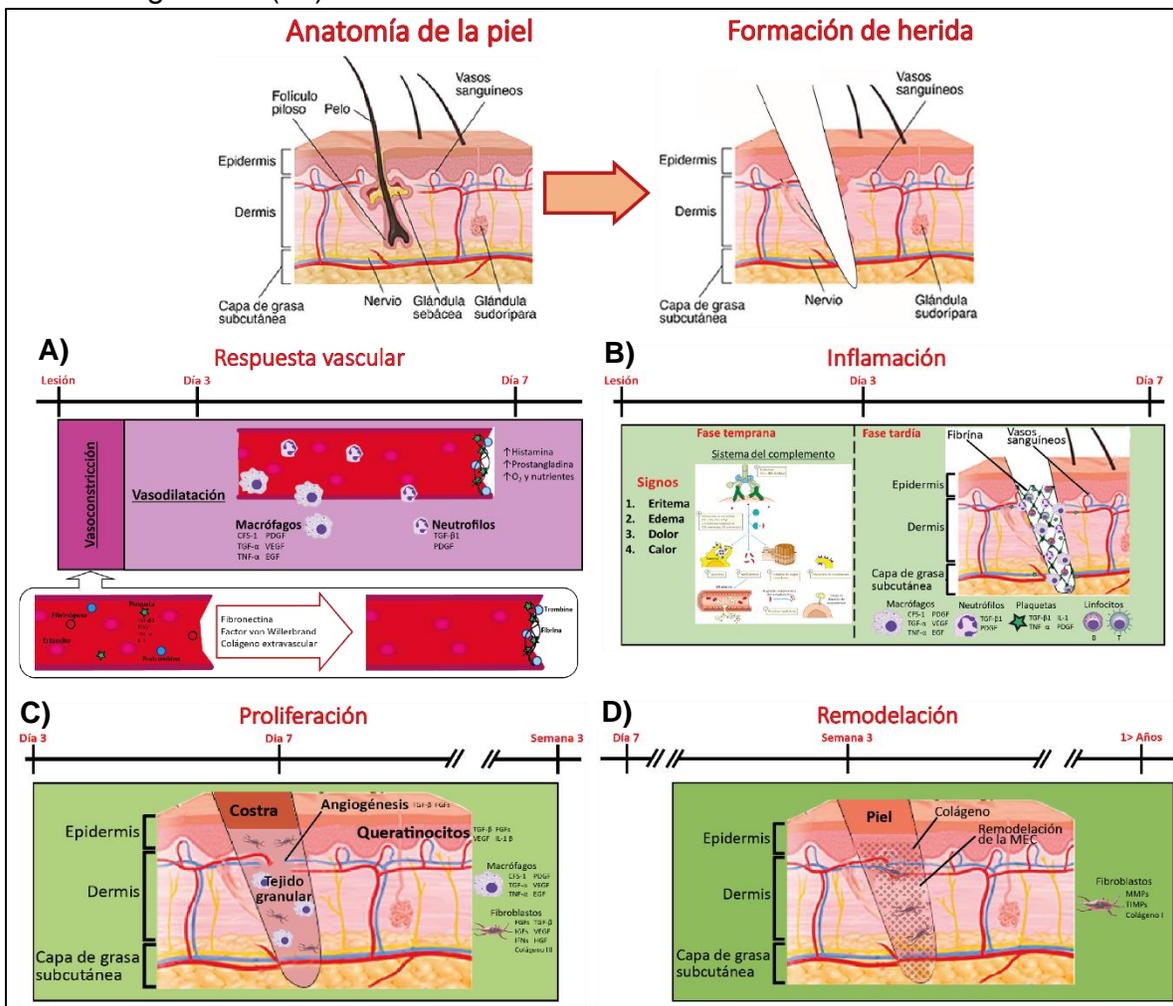
La adhesividad plaquetaria es medida por receptores de integrina tal como GPIIb/IIIa que está dentro de la cascada de coagulación (44). C3a y C5a de la anafilotoxina incrementan la permeabilidad vascular y atrae a neutrófilos y monocitos a la herida.

Un flujo de neutrófilos seguidos por monocitos y las proteínas del plasma entran al sitio de la herida. La activación de los fragmentos del complemento ayudan a eliminar bacterias a través de la opsonización, proceso por el cual se marca a un patógeno para su ingestión y destrucción por un fagocito (44).

## Proliferación

Se genera un aumento en la población de queratinocitos, promoviendo la formación de epitelio para cubrir la superficie de la herida, un crecimiento de tejido de granulación llena el espacio de la herida a espera de convertirse en epitelio.

La formación de tejido de granulación implica la proliferación de fibroblastos, la deposición de colágenos y otras matrices extracelulares, y el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos (46).



**Figura 10. Fases de la cicatrización.** A) Respuesta vascular, inicia la vasoconstricción y vasodilatación; B) Inflamación, se divide en fase temprana y tardía; C) Proliferación, de fibroblastos y células endoteliales; D) Remodelación. (1, 2).

En esta fase es donde se realiza una multiplicación de fibrina y fibrinógeno debido al aumento de fibroblastos que se deposita en la herida, de esta forma se activa la fibroplasia que determina el cierre de la herida (44, 46). Esta etapa se caracteriza por la angiogénesis y puede tardar 3 semanas o más dependiendo el tipo de herida.

Los pericitos dentro de la lámina basal se activan y forman un andamio y proporciona integridad estructural a las células endoteliales. Algunos grupos sugieren que estos pericitos activados son células estromales con mayor plasticidad. Además de las células locales, las células progenitoras circulantes de la médula ósea también apoyan la formación de nuevos vasos sanguíneos durante la cicatrización de heridas. La formación de nuevos vasos sanguíneos involucra varios tipos de células y la mayor parte de la diversidad celular ocurre dentro del espacio perivascular (47).

### **Remodelación**

Esta última fase de la cicatrización puede durar semanas o años, el tejido de granulación pasa por un proceso de disminución gradual. La epidermis, el tejido vascular y los nervios se remodelan, formando un tejido funcional. Los componentes vasculares de los fibroblastos y miofibroblastos del tejido de granulación disminuyen y las células mononucleares de sangre periférica sufren apoptosis o abandonan la herida. Asimismo, disminuyen las cantidades de proteoglicanos y glucosaminoglicanos que cumplían una función estructural y de hidratación. Las metaloproteinasas de colágeno liberadas por los fibroblastos y los macrófagos degradan el colágeno de tipo III del tejido de granulación y lo sustituyen por

colágeno de tipo I, que se reorganiza además en fibrillas paralelas, formando una cicatriz de baja celularidad (48).

### **1.8. Cicatrización en la DM**

El deterioro de la cicatrización en la diabetes afecta tanto heridas agudas como crónicas y la hiperglucemia desencadena la cascada de complicaciones celulares (49, 50). Se establece un círculo vicioso interamplificativo entre el fenotipo crónico y el control deficiente de la infección, que determina que el 85% de todas las amputaciones no traumáticas de miembros inferiores se practiquen en individuos diabéticos. La hiperglucemia es el detonador etiopatogénico proximal en el inicio y progresión de los desórdenes bioquímicos que dan lugar a las complicaciones sistémicas. Contrario a lo que ocurre durante la cicatrización normal, la eliminación apoptótica de las células inflamatorias se detiene, lo que provoca un anormal estancamiento de la fase inflamatoria en las heridas diabéticas (50).

Debido a que la DM es una enfermedad crónica, al paso del tiempo, la neuropatía y otros factores provocan la deformación de la herida. Tomando como ejemplo el caso del pie diabético, la distribución de la presión sobre el pie es variable y surge una presión anormal en diferentes puntos. Debido a la presión recurrente, se producen queratosis y formación de callos. La formación de callos es un signo de gravedad de la enfermedad, ya que se ejerce una presión 20 veces mayor sobre el punto del callo en comparación con la piel circundante. La presión excesiva ejercida sobre las áreas callosas daña los tejidos del pie e induce la formación de úlceras debajo del callo que causa grietas adicionales en los pies (51).

El único cambio que se ha documentado ampliamente acerca de la fisiopatología de la afectación arterial en los pacientes con diabetes es la inflamación de la membrana basal, que se asocia con microangiopatía diabética en diversos grados (52).

### **1.9. Antecedentes**

Las plantas medicinales han ocupado desde la antigüedad un lugar central en la terapéutica. Inicialmente, por su proximidad natural al ser humano, se utilizaron siguiendo criterios ceremoniales, pero paulatinamente, durante siglos, se fue adquiriendo un conocimiento medicinal empírico, por ensayo-error. Con el nacimiento de la medicina científica, en la Grecia clásica, se produjo un cambio importante en el estudio y aplicación de las plantas medicinales (53). Las plantas se utilizan con fines medicinales en diferentes países y son una fuente de muchos fármacos potentes y poderosos. Se utiliza una amplia gama de partes de plantas medicinales para su extracción como fármacos crudos ya que poseen diversas propiedades medicinales (54). Estas fueron durante mucho tiempo nuestra principal fuente de productos terapéuticos. Las plantas medicinales pueden actuar como estimuladores naturales del sistema inmunológico. Recientemente, ha aumentado el interés en las propiedades terapéuticas de las medicinas tradicionales debido al aumento de los problemas asociados con las medicinas alopáticas, incluido el desarrollo de resistencia bacteriana, la disminución de la eficacia de algunos fármacos y los efectos secundarios dañinos asociados con muchos fármacos sintéticos. En particular, más del 50% de los medicamentos que se utilizan a nivel

mundial en los productos farmacéuticos modernos se derivan de productos naturales. La importancia de las plantas medicinales es evidente a partir de la comercialización mundial de fármacos derivados de diversas especies de plantas (55).

Con la aparición de la industria farmacéutica y los avances de farmacología, las plantas pasaron a ser fuente de principios activos de medicamentos de síntesis, y más tarde, ha sido desplazadas por éstos. Tenemos que diferenciar planta medicinal de droga vegetal. La OMS lo definió en 1978: planta medicinal es aquella que en uno o más órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o son precursoras de fármacos de síntesis. Droga vegetal es la parte de la planta medicinal en la que encontramos mayor concentración de principios activos, puede ser la hoja, la flor, la raíz, etc. Una planta medicinal contiene numerosas sustancias químicas, unas son sus principios activos, los que le confieren sus propiedades, y otras, sustancias coadyuvantes o inertes que facilitarán la acción de los primeros. Se han hecho estudios en los que se separa el principio activo, que ejercía la acción terapéutica, y se vio que la acción no era la misma. Por ello tenemos que ver la planta como un todo (56).

### **1.10. Uso de la familia Anacardiaceae (Julianiaceae)**

La familia Anacardiaceae (también llamada Julianiaceae) son árboles o arbustos ubicados principalmente en áreas tropicales, pero también subtropicales y templadas. Los datos sobre el número de géneros y especies que pertenecen a esta familia no son completamente consistentes. Mientras que algunos informes

mencionan alrededor de 70 géneros y 600 especies, aproximadamente 81 géneros y 800 especies se mencionan en publicaciones (57, 58). Fue propuesta por primera vez por Lindley en 1830, pero sus miembros han sido colocados de diversas formas en otras familias, incluidas las *Blepharocaryaceae* Airy Shaw, *Cassuviaceae* Juss. ex R. Br., *Comocladaceae* Martinov, *Julianiaceae* Hemsl., *Lentiscaceae* Horaninow, *Pistaciaceae* Adans., *Podoaceae* Baill. ex Franch., *Rhoaceae* Spreng. ex Sadler, *Schinaceae* Raf., *Spondiadiaceae* Martinov, *Sumachiaceae* (DC.) Perleb, *Terebinthaceae* Durande y *Vernicaceae* Link. Tres de estas familias, *Podoaceae*, *Blepharocaryaceae* y *Julianiaceae*, todavía son consideradas por algunos taxonomistas como distintas, pero estrechamente relacionadas (59).

Al ser una familia tan variada, no es raro encontrar varios estudios de diferentes tipos de especies, entre ellas se destacan varias por su bioactividad, algunas de estas están se describen en la Tabla 3.

**Tabla 3. Bioactividad de la familia Anacardiaceae.**

Bioactividad	Especie	Tipo de estudio y modelo	Extracto y dosis	Resultados	Ref.
Antimicrobiano	<i>Cyrtocarpa procera</i>	<i>In vitro</i> , probado contra <i>H. pylori</i>	Hexánico 7.81 mg/mL CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 15.6 mg/mL CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH 62.5 mg/mL Metanol 62.5 mg/mL Acuoso 125 mg/mL	El extracto hexánico presentó el mayor efecto inhibitor con una concentración mínima de inhibición de 7.81 mg/mL, se utilizó una concentración de 300 mg/mL de metronidazol, 0.5 mg/mL de claritromicina y 0.05 mg/mL de amoxicilina como controles positivos.	(39, 60)

Gastroprotector	<i>Cyrtocarpa procera</i> y <i>Amphipterygium adstringens</i>	<i>In vivo</i> , ratas Wistar de 180-220 g de peso. Inducción de úlceras con etanol absoluto.	Hexano, acetato de etilo, metanol, particiones de acetato de etilo y metanol a partir del extracto metanólico a 10, 30, 100, 300 y 1000 mg/Kg en un volumen de 2 mL/Kg. Control positivo (subsalicilato de bismuto) 100 y 300 mg/Kg	Debido a que el extracto metanólico de <i>Cyrtocarpa procera</i> presentó el mejor efecto gastroprotector a una dosis de 300 mg/Kg, se evaluaron particiones con acetato de etilo y metanol a partir del extracto de metanol. El mejor efecto gastroprotector fue para el extracto metanólico de <i>Cyrtocarpa procera</i> con un 98% de protección a una dosis de 300 mg/Kg.	(60, 61)
	<i>Cyrtocarpa procera</i>	<i>In vivo</i> , ratones machos CD1 de 30-35 g inducidos con etanol absoluto	Hexánico, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH, metanólico y acuoso, dosis de 0.1-300 mg/Kg de cada extracto	Los extractos que presentaron un efecto protector de úlceras a una dosis de 300 mg/Kg fueron el hexánico, metanólico y acuoso. Siendo el metanólico el que presenta mejores resultados, inclusive más que la carbenoxolona a 50 mg/Kg	(39, 60)
Antiinflamatorio		<i>In vivo</i> , edema auricular en ratones machos CD1 de 20-25 g inducidos con TPA		El extracto hexánico presentó el mejor efecto antiinflamatorio con una dosis efectiva 50 (ED50) de 1.75 mg/oreja.	
	<i>Lannea barteri.</i>	<i>In vivo</i> , modelo de inflamación con albúmina de huevo en patas de ratas albinas suizas endogámicas de ambos	Metanólico 200 y 400 mg/Kg. Fracciones de hexano, etilacetato y metanol 400 mg/Kg	En la primera fase (3 h) de la inflamación, HFLB provocó la mayor inhibición (40%) del edema formado seguido de MELB (200 y 400 mg/kg) que provocó una inhibición del 30% mientras que en la segunda fase	(62)

		sexos (170 - 220 g)		(5 h), MELB (200 mg / kg) causó la mayor inhibición (33%) seguida de EFLB que causó 19.3% de inhibición	
		<i>In vivo</i> , modelo de inflamación por edema auricular inducido por xileno en ratón albino suizo de ambos sexos (19 – 35 g)	100 mg/Kg de cada extracto (metanólico, fracciones de hexano, etilacetato y metanol)	El HFLB provocó la mayor inhibición del edema con un valor de 78.26% seguido de MFLB (71.74%), y EFLB (56.52%) mostrando que tenían mejor actividad que el control positivo (piroxicam) con 53.26% y el MELB con 51.09% de inhibición a la misma concentración.	
	Mangiferina de <i>Mangifera indica</i> L.	<i>In vivo</i> , ratas Sprague–Dawley macho de 8-10 semanas de edad y un peso de 200-250 g. Modelos de formalina, naloxona y lesión por constricción crónica.	10, 50, 100 mg/Kg, con un volumen de la dosis de 1 mL/Kg i.p.	Mangiferina disminuye las conductas relacionadas con el dolor, sin relación con la sedación o la coordinación motora, exclusivamente en la fase tónica de la prueba de formalina al 5%, lo que se ha considerado que se debe a los componentes inflamatorios y a la sensibilización periférica y central. Se conoce el efecto selectivo que muestran los inhibidores de la COX y la NOS y los antagonistas del NMDA en esta fase. Se ha reportado que la mangiferina disminuyó el flujo de Ca <sup>2+</sup> mediado por el glutamato durante la activación del receptor NMDA en	(63, 64)

				las neuronas, hecho que sugirió una modulación de este proceso por esta xantona.	
	Zumaque (extracto acuoso de <i>Rhus coriaria</i> )	<i>In vivo</i> , modelo de enterocolitis necrosante en ratas recién nacidas	2 mL/Kg diario por el periodo de estudio	El tratamiento con zumaque demostró que la apoptosis y la inflamación se redujo en los intestinos de las crías de rata con enterocolitis necrosante inducida. En este estudio, los niveles de IL-6 y TNF- $\alpha$ aumentaron significativamente en el grupo de enterocolitis necrosante y el tratamiento con zumaque redujo significativamente este aumento, lo que revela un efecto antiinflamatorio del tratamiento con zumaque en la enterocolitis necrosante.	(65, 66)
Cicatrizante	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>In vivo</i> , modelo de quemadura en conejos New-Zealand machos	Grasas de origen vegetal, 1 mL diario por vía tópica	Tras 4 días de tratamiento, los resultados mostraron que tanto el aceite de lentisco como la crema de Madecassol aceleraron significativamente la cicatrización de la herida en comparación con las heridas tratadas con vaselina y las heridas no tratadas. La contracción de la herida fue significativamente mejor y la cicatrización fue más rápida en el	(67, 68)

				grupo de aceite de lentisco que en los demás grupos.	
--	--	--	--	--	--

### 1.11. Uso del Cuachalalate en la medicina tradicional

*Amphipterygium adstringens* Schiede ex Schlecht (Figura 11) presenta diferentes nombres comunes, dependiendo la región del País. Entre ellos los siguientes: Cuachalalate (Michoacán, Jalisco, Morelos. Guerrero), cuachalalá (Oaxaca), cuacha, maticerán (Michoacán), macerán (Guerrero), mapicerán (Jalisco), volador (Puebla), Nun o palo de manteca (Oaxaca), sumal (Guerrero) (69). Su clasificación taxonómica se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4. Clasificación taxonómica del cuachalalate.**

<b>DIVISIÓN:</b> MAGNOLIOPHYTA
<b>CLASE:</b> MAGNOLIOPSIDA
<b>SUBCLASE:</b> ROSIDAE
<b>ORDEN:</b> SAPINDALES
<b>FAMILIA:</b> JULIANIACEAE
<b>GÉNERO Y ESPECIE:</b> <i>Amphipterygium adstringens</i> Schiede ex Schlecht.
<b>NOMBRES COMUNES:</b> Cuachalalate, cuachalalá, cuacha, maticerán, macerán, mapicerán, volador, nun, palo de manteca, sumal

*A. adstringens* es una de las especies con mayor uso tradicional en la herbolaria mexicana. Se le atribuyen como remedio de una gran cantidad de enfermedades que se describen en la Tabla 5.

**Tabla 5. Uso del cuachalalate como remedio tradicional. Modificada de Solares, 2002.**

<b>USO</b>	<b>FORMA DE USO (CORTEZA)</b>
Astringente, endurecedor de encías, reduce la inflamación de ovarios, lavado de heridas.	Infusión de 50 g en agua y enjuagues.
Fiebre intermitente, paño, malaria, cáncer estomacal e intestinal, tifoidea, úlcera de estómago, antiséptico, antidiabético, reducción de colesterol en sangre, calmante, destrucción de cálculos renales y biliares, tosferina, para la tos, infecciones urinarias, úlcera de matriz, mucosidad en el estómago, destrucción de tumores, en hernias y afecciones del riñón.	Infusión de 100 g de corteza y se toma el agua de uso
Antiséptico, cicatrizante en diabéticos, antibiótico, erupción o llagas en la piel.	Polvo aplicado sobre la superficie afectada
Lavado vaginal.	Una cucharada sopera de polvo de corteza por litro de agua con romero, tlachichinole, capitaneja, hierba del cáncer y árnica

Debido a su uso en la medicina tradicional, la comunidad científica ha mostrado interés sobre esta corteza por lo que se han llevado a cabo varios experimentos en diferentes modelos para evaluar sus diferentes actividades, entre algunos de estos son:

En 1998 Navarrete A., Martínez L. y Reyes B. evaluaron *A. adstringens* como gastro protector en úlceras inducidas en ratas, los resultados muestran que el cuachalalate tiene un efecto dosis-dependiente pero su efecto es un poco bajo en comparación a un compuesto que está en el mercado.

Debido a la explotación de las poblaciones silvestres del cuachalalate, Solares y Gálvez (2002) publicaron un manual para la producción sustentable de la corteza del Cuachalalate (*A. adstringens*) donde mencionan desde su taxonomía, su hábitat, distribución, su correcto descortezamiento y su importancia etnobotánica. De esta manera, el cuachalalate puede ser cultivado para asegurar la producción de corteza, garantizando una materia prima uniforme para la preparación de los productos comerciales sin afectar las reservas naturales.

Castillo-Juárez en el 2007 evaluaron su actividad antimicrobiana usando un extracto de éter de petróleo con la cepa ATCC 43504 de *Helicobacter pylori*. Obteniendo como resultado que solo los ácidos anacárdicos inhibieron completamente el crecimiento de las bacterias. El ácido 3-epi-oleanoico inhibe al 70% con 50 µg/ml, y los otros terpenoides no inhiben su crecimiento (70).

Robles-Zepeda en 2011 de igual manera evaluó su actividad antimicrobiana de diferentes plantas, entre ellas, utilizó un extracto metanólico de la corteza de *A. adstringens*, el modelo que utilizó fue la cepa bacteriana *H. pylori* obtenida de un adenocarcinoma gástrico y la cepa estándar ATCC 43504 de *Helicobacter pylori* como referencia. Los resultados obtenidos mencionan que los extractos de *Castella tortuosa*, *Ibervillea sonorae* y *Ambrosia confertiflora* fueron los inhibidores del

crecimiento bacteriano más eficientes ( $MIC_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$ ), seguidos de los extractos de *Amphipterygium adstringens*, *Krameria erecta*, *Selaginella lepidophylla* y *Couterea latiflora* ( $MIC_{50}$  a  $400 \mu\text{g/mL}$ ) (71).

Castillo-Juarez *et al.* en el 2007 realizó una evaluación del extracto hexánico de la corteza de Cuachalalate obteniendo como resultados la separación por cromatografía en columna de esta fracción activa que permitió el aislamiento e identificación del ácido  $3\alpha$ -hidroximatásticodienónico, ácido masticadienónico, ácido 3-epi-oleanoico,  $\beta$ -sitosterol y una mezcla de ácidos fenólicos de cadena larga (ácidos anacárdicos). Se determinó el efecto de la mezcla de ácidos anacárdicos, ácido masticadienónico, ácido  $3\alpha$ -hidroximasticadienónico y ácido 3-epi-oleanoico (200, 100, 50, 12,5 y  $6.25 \mu\text{g/mL}$ ) sobre el crecimiento de *Helicobacter pylori* ATCC 43504 utilizando caldos de cultivo. No se probó el efecto del  $\beta$ -sitosterol debido a su insolubilidad en medios de cultivo. Solo los ácidos anacárdicos inhibieron completamente el crecimiento de las bacterias. El ácido 3-epi-oleanoico inhibe el 70% con  $50 \mu\text{g/mL}$ , y los otros terpenoides no inhiben su crecimiento (70).

Otro estudio realizado por Castillo-Juarez *et al.* en el 2013, en un modelo de inhibición de la producción de violaceína en *Chromobacterium violaceum* y la bacteria patógena *Pseudomonas aeruginosa*, encontró que el extracto hexánico indujo un 91.6% de inhibición de la producción de violaceína a una concentración de  $55 \text{mg/mL}$ , mientras que la mezcla de ácidos anacárdicos (68) mostró un 94% de inhibición a  $166 \text{mg/mL}$ . En ambos casos, la inhibición de la producción de violaceína no afectó la viabilidad de la bacteria. AAM inhibió la producción de

piocianina (86% a 200 mg/mL) y ramnolípido (91% a 500 mg/mL) en una forma de dosis/respuesta y disminuyó la actividad de elastasa (75% a 500 mg/mL) en *P. aeruginosa* sin afectar su desarrollo (73).

Oviedo-Chávez *et-al.*, en 2004 realizó un experimento donde utilizaron ratas Wistar macho con un peso de 150 – 200 g y ratones CD-1 macho con un peso de 20 – 25 g. Evaluando extractos acuosos y hexánicos, los resultados mostraron que el extracto hexánico posee actividad dosis/dependiente, mientras que el extracto acuoso no mostró ningún efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido por TPA. Se encontraron efectos inversos en la prueba de carragenina, en la que el extracto acuoso mostró un 73.5% de inhibición del edema, mientras que el extracto hexánico mostró solo un 14.4% de actividad a 100 mg/Kg de peso corporal. Estos resultados podrían indicar que los diferentes extractos poseen diferentes mecanismos de acción antiinflamatorios (74).



**Figura 11. Cuachalalate, árbol, hojas y corteza.** Ejemplar de cuachalalate ubicado en el jardín etnobotánico y museo de medicina tradicional y herbolaria de Cuernavaca.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

La DM es una enfermedad que se caracteriza por la hiperglucemia crónica. Los datos presentados por la ENSANUT 2018 muestran que la prevalencia de la DM fue en 10.3% en la población en general, con un ligero predominio en mujeres (11.4%) en comparación con los hombres (9.1%). Actualmente es la segunda causa de muerte en México, después de la cardiopatía isquémica, enfermedad frecuentemente resultante de la diabetes. La hiperglucemia crónica contribuye al desarrollo de un gran número de complicaciones entre las que se encuentran la ceguera, insuficiencia renal y la amputación de extremidades inferiores, las cuales ahora son consideradas como indicadores del cuidado de la diabetes. Todo lo

anterior disminuye la calidad de vida del paciente e incrementa la mortalidad asociada a la DM.

Uno de los problemas que causa una mayor cantidad de hospitalizaciones de pacientes es el pie diabético. La combinación particular de neuropatía periférica (daño nervioso) y enfermedad vascular periférica (venas dañadas) en la diabetes mellitus contribuye a problemas de cicatrización.

Debido a la cantidad de personas que presentan diabetes mellitus en México, y a la tasa de hospitalización debido al pie diabético, es importante contar con tratamientos que ayuden a reducir el tiempo de cicatrización de las heridas en personas diabéticas.

El Cuachalalate (*Amphiptherygium adstringens*) es un árbol cuya corteza se utiliza como remedio para más de 30 enfermedades incluyendo úlceras gástricas, debido a que posee actividad antiinflamatoria, cicatrizante y antibacterial. Sin embargo, muy poco se sabe sobre su efecto en el proceso de cicatrización durante el estado diabético. Es por esto que en el presente proyecto se propone evaluar el efecto cicatrizante de *A. adstringens* en modelos murinos de diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2.

### **3. HIPÓTESIS**

Los extractos de *Amphiptherygium adstringens* reducen el tiempo de cicatrización en un modelo experimental de roedores inducidos a diabetes.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 General**

Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hexánico de *Amphiptherygium adstringens* en modelos experimentales con diabetes mellitus tipo 1 y 2.

### **4.2 Particulares**

- Comparar el cierre de la herida en ratones naïve, con diabetes tipo 1 y con diabetes tipo 2 a través de una cinética de cicatrización.
- Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 1 a través de una cinética de cicatrización.
- Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 2 a través de una cinética de cicatrización.

## **5. METODOLOGÍA**

### **5.1 Obtención de extractos**

Los extractos de cuachalalate fueron obtenidos en el Instituto de Química (69) por el grupo del Dr. Mariano Martínez con solventes de polaridad creciente (hexano, acetato de etilo, metanol). Este grupo consolidado ha trabajado con *Amphiptherygium adstringens* (cuachalalate) desde hace más de 20 años.

Las muestras de la corteza de cuachalalate fueron recolectadas en Barranca Honda, municipio de Tlaltizapán, Morelos a una altitud aproximada de 1350 a 1500 metros

sobre el nivel del mar. La colecta fue hecha en 3 periodos diferentes (noviembre, febrero y mayo del 2013). Se descortezaron cuatro árboles por cada sexo, recolectando la resina para buscar posibles terpenos de interés.

Para la obtención de extractos, una muestra de 200 g de corteza se extrajo con 300 mL de hexano con 4 cambios de solvente y posteriormente se realizó la evaporación del solvente en un rotavapor. Posteriormente, la fracción se llevó a cabo por una columna de cromatografía a baja presión con polaridad creciente con hexano y acetato de etilo, iniciando con 100% hexano, prosiguiendo con hexano-acetato de etilo 9:1, 8:2, 7:3, terminando con 100% de acetato de etilo. La purificación de los compuestos fue realizada por una recristalización en hexano con acetato de etilo. Por último, la identificación por métodos físicos se llevó a cabo con un aparato de Electrothermal y métodos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  en el Instituto de Química de la UNAM.

## **5.2 Animales**

Se emplearán ratones C57 hembras adultos jóvenes, de 2 meses de edad con peso de 20 a 25 g al inicio de los experimentos. Los animales se mantuvieron en condiciones estándar con ciclos de luz/oscuridad de 12/12 horas a temperatura constante (23-25°C), humedad controlada (50%). Con libre acceso al agua y alimento (dieta estándar de roedor y dieta hipercalórica para el caso de DMT2).

### **5.3 Inducción a DMT1.**

La inducción de DMT1 se realizó a través de la inyección intraperitoneal de STZ. Para esto se empleó un esquema de administración de 5 inyecciones intraperitoneales consecutivas de STZ (una cada 24 hora) a una dosis 50 mg/kg, con un ayuno previo de 6 horas. El seguimiento del establecimiento de DMT1 se realizó mediante el monitoreo de los niveles de glucosa en sangre y del peso corporal de los animales de experimentación (una vez por semana). La medición de los niveles de glucosa en sangre se realizó a las 2, 4 y 8 semanas después de inyección de STZ, con un ayuno previo de 12 horas. Para esto se obtuvo una gota de sangre de la vena caudal y se procesó en un glucómetro previamente calibrado (Accutrend Plus, Roche Diagnostics, Barcelona, España). Solo se incluyeron en el experimento los ratones con niveles de glucosa mayores a 200 mg/dL.

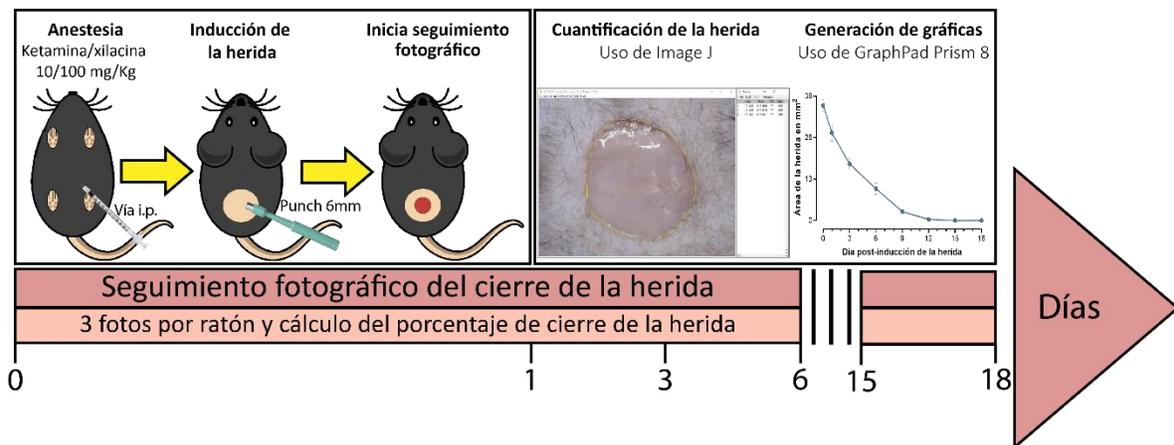
### **5.4 Inducción a DMT2.**

Se formaron grupos de 8-10 ratones de 6 semanas de edad al inicio del experimento. La inducción del modelo de DMT2 se realizó utilizando dos aproximaciones experimentales. La primera fue alimentar a los animales de experimentación con una dieta de cafetería por un periodo de 32 Semanas. La segunda fue la inducción de disfunción ligera de las células  $\beta$ - pancreáticas mediante la administración de dosis bajas de STZ 8 semanas después de iniciada la dieta. La administración de STZ se realizó en este punto debido a que los ratones alimentados con dieta de cafetería incrementaron significativamente el peso (aproximadamente 10 g) con respecto a los ratones alimentados con dieta estándar.

La dieta de cafetería utilizada en el presente estudio es una adaptación de una dieta de cafetería reportada previamente por Leffa y colaboradores (78), que proporciona aproximadamente 40.27 kcal/día. Esta dieta consta de alimentos de fácil acceso para la población mexicana que son ricos en carbohidratos y grasas (36.5% grasas; 42.2% carbohidratos y 22.3% proteínas). Con los alimentos de la dieta se diseñó un menú para cada día de la semana. Este menú se proporcionó a los ratones durante las 32 semanas del experimento. Para esto, todos los días por la mañana (8:30-10:00 AM) se pesaron los diferentes alimentos del menú y se pusieron a disposición de los animales. Adicionalmente, 24 horas después se pesó la cantidad de alimento remanente con la finalidad de calcular la cantidad de alimento consumida. Ocho semanas después de iniciada la dieta a los roedores se les administró 1 dosis diaria de 30 mg/Kg vía i.p. de STZ, por 4 días con la finalidad de inducir disfunción leve de las células  $\beta$ -pancreáticas. Después de la inyección de STZ se continuó alimentando a los ratones con dieta de cafetería por un periodo de 24 semanas. Durante todo el tratamiento experimental se realizó el monitoreo de glucosa capilar y peso. Adicionalmente se realizaron curvas de tolerancia oral a la glucosa 4 y 24 semanas después de la inyección de STZ con la finalidad de verificar el desarrollo de DM. Cabe mencionar que este modelo de DM2 se tiene bien estandarizado y validado en nuestro laboratorio. Para realizar la cinética de cicatrización solo se utilizaron ratones que presentaron niveles de glucosa mayor a 150 mg/dL, intolerancia a la insulina y valores de glucosa mayores de 200 mg/dL 2 horas después de recibir una carga de glucosa (2 g/Kg).

## **5.5 Cinéticas de cicatrización.**

Para realizar las cinéticas de cicatrización se utilizaron ratones C57 naïve, con DMT1 o DMT2 que cumplan con los criterios previamente mencionados. A estos se les realizó una herida de 6 mm de diámetro en la región dorsal del ratón. Para esto, a los ratones se les rasuró el pelo del dorso bajo condiciones de anestesia con una mezcla de ketamina/xilacina 10/100 mg/Kg de peso por vía i.p. Inmediatamente se procedió a realizar una herida circular utilizando para ello un punch de biopsia (navaja circular) de 6 mm de diámetro. Después, se regresó a los ratones a su caja habitación para permitirles recuperarse de la anestesia. Finalmente, se realizó el seguimiento fotográfico del cierre de la herida para realizar la cuantificación del área de la herida con la ayuda del software Image J. La obtención de fotografías se realizó los días 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15 y 18 post-inducción de la herida. Para esto el día correspondiente los ratones fueron anestesiados con isoflurano y se obtuvieron tres fotografías de la herida por ratón con la ayuda de una cámara fotográfica de un celular de marca Motorola modelo Moto Z3 play, utilizando un vernier como medida de referencia, a una distancia de 10 cm con un zoom de 2x. Posteriormente y con ayuda del software Image J se realizó la medición del área de la herida por triplicado y de 3 fotos distintas. El promedio de estas nueve mediciones de la herida/día se utilizó para construir el curso temporal de cierre de la herida (Figura 12).



**Figura 12. Diseño experimental de la inducción a herida.** En el día cero se anestesia y se rasura la parte dorsal del ratón. Posteriormente se induce la herida con un punch de 6 mm de diámetro y se realiza el seguimiento fotográfico los días 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15 y 18 después de la inducción de la herida. A partir de las fotos obtenidas se calculó el área de la herida con ayuda del software image J.

## 5.6 Diseño experimental.

*Objetivo 1. Comparar el cierre de la herida en ratones naïve, con diabetes tipo 1 y con diabetes tipo 2 a través de una cinética de cicatrización.*

Para cumplir con este objetivo se utilizaron los siguientes grupos experimentales (n=8-10 animales por grupo). Los grupos 1 y 2 están formados por ratones naïve hembra o macho de 5 meses de edad respectivamente. Los grupos 3 y 4 están formados por ratones naïve hembra o macho de 8 meses de edad respectivamente. Los grupos 5-8 fueron ratones hembra o macho con 3 o 6 meses post-inducción de DMT1. Finalmente, el grupo 9 fueron ratones hembra con DMT2 6 meses post inducción. A cada grupo se les realizó la herida y se les realizó el seguimiento fotográfico del cierre de la herida como se indicó previamente.

*Objetivo 2. Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 1 a través de una cinética de cicatrización.*

Para determinar la actividad cicatrizante del extracto hexánico de *A. adstringens*, se plantearon los siguientes grupos experimentales (n=8-10) en ratones con DMT1 con 3 meses post-inducción: Grupo 1. DMSO al 5% (vehículo); el grupo 2 fue tratado de forma tópica con 100 µg/herida de extracto hexánico de *A. adstringens* (Ext.Hex.) y el grupo 3 fue tratado con KitosCell-Q como control positivo. Después de la generación de la herida, el seguimiento fotográfico y la medición del área de cada herida se determinó como se describió previamente.

*Objetivo 3. Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 2 a través de una cinética de cicatrización.*

Para determinar la actividad cicatrizante de los extractos de *A. adstringens*, la herida fue inducida como se describió en las cinéticas de cicatrización. Se formaron 5 grupos de 8-10 ratones hembra con DMT2 que cumplieron los criterios previamente establecidos. El grupo 1 fue tratado con DMSO al 5% (vehículo); el grupo 2 fue tratado con 100 µg/herida de extracto hexánico de *A. adstringens* (Ext.Hex.) y el grupo 3 fue tratado con KitosCell-Q como control positivo. Después de la generación de la herida, el seguimiento fotográfico y la medición del área de cada herida se determinó como se describió previamente. Cada uno de los tratamientos fue administrado por vía tópica después de la generación de la herida, el seguimiento fotográfico y la medición del área de cada herida fue determinado como se describió previamente en las cinéticas de cicatrización.

## 5.7 Análisis estadístico

Todos los resultados se expresan como la media de 8-10 animales  $\pm$  el error estándar de la media (SEM). El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software GraphPad Prism 8 (Software, Inc.). Para determinar si existen diferencias estadísticas se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía para comparar más de dos grupos. En los casos en donde el tiempo es un factor adicional que contribuye al resultado, se utilizó ANOVA de dos vías de medidas repetidas seguido de la post-prueba de Tukey o Bonferroni. Se consideró que existe diferencia estadísticamente significativa cuando el valor  $P < 0.05$ .

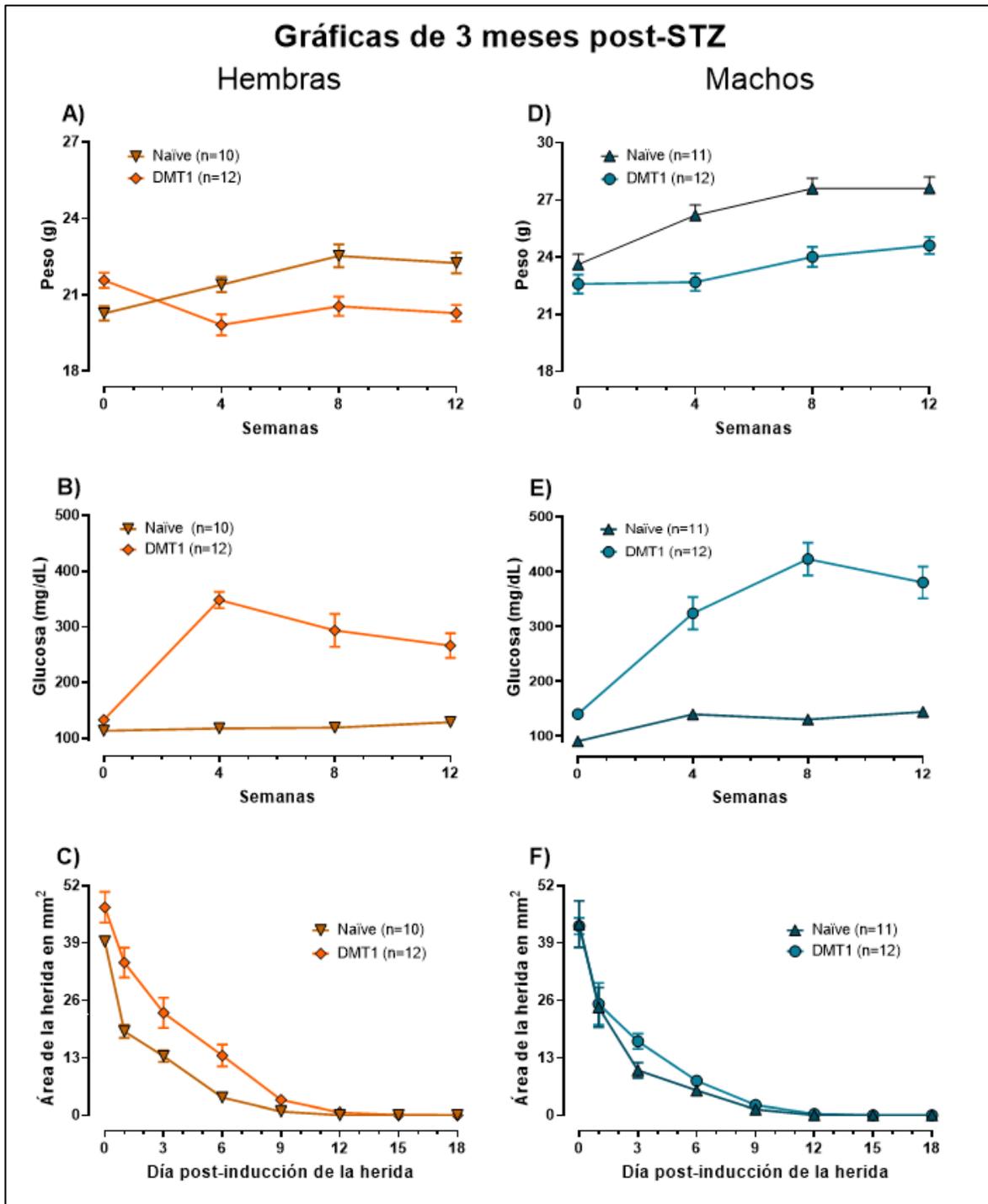
## 6. RESULTADOS

Con el fin de evaluar la actividad cicatrizante de los extractos y principios activos aislados del cuachalalate fue necesario elegir alguno de los modelos experimentales de cicatrización descritos previamente (79).

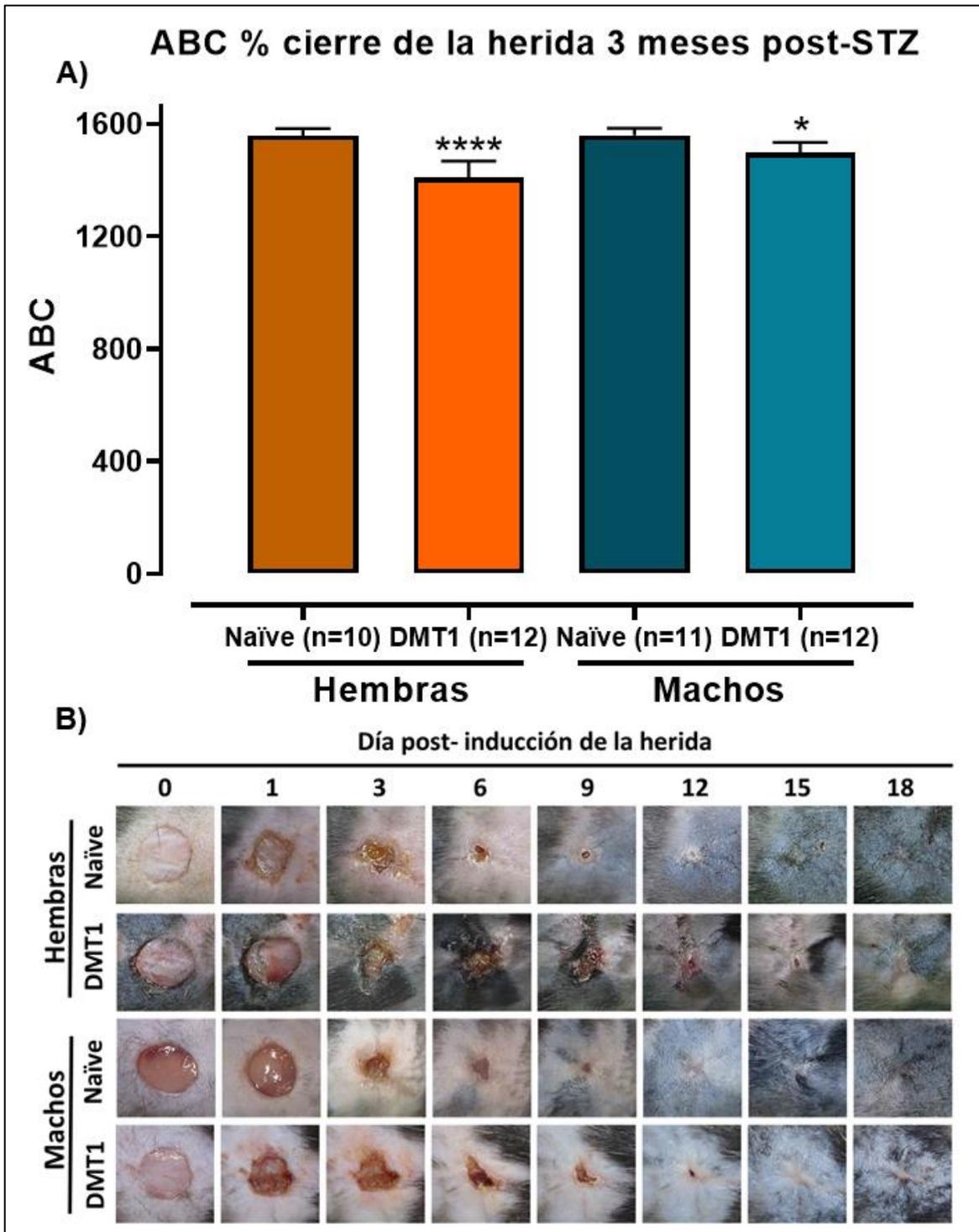
Para poder evaluar el comportamiento de la cicatrización en la DMT1 con diferentes tiempos de evolución, se realizaron cinéticas de cicatrización con 2 cohortes diferentes, a las 12 y 24 semanas post inducción con STZ (5 y 8 meses de edad respectivamente). En la Figura 13 se muestra el seguimiento de peso, glucosa y la cinética de cicatrización que se realizó en los grupos de ratones 12 semanas post-inducción de la DMT1. En los paneles 13 A, B y C se puede observar el comportamiento de los ratones hembra y en los paneles 13 D, E y F se muestra el comportamiento de los machos. En cuanto al peso se observó que tanto en hembras

como en machos la inducción de DMT1 con STZ produjo una disminución de peso significativa en comparación del grupo naïve y que se mantuvo por las 12 semanas del experimento. Además, se observó que la inducción de DMT1 produjo en ambos sexos un incremento significativo de la concentración de glucosa por arriba de los 300 mg/dL desde las 4 semanas post-inducción y se mantuvo elevado durante el tiempo del experimento, indicando el desarrollo de hiperglucemia crónica.

En cuanto a la cinética de cicatrización, se observó una diferencia importante en el grupo de hembras, ya que se aprecia que el área de cierre de la herida es mucho mayor en comparación con los ratones naïve y con los ratones diabéticos machos. Esto indica un retraso en la cicatrización. Lo anterior se confirma en la Figura 14 en donde al realizar el análisis de área bajo la curva (ABC) puede apreciar que el área obtenida por el grupo de hembras con DMT1 muestra un área menor en comparación con el resto de los grupos.



**Figura 13. Seguimientos de 12 semanas post-STZ.** Seguimiento de peso (A y D), glucosa (B y E) y cinética de cicatrización (C y F), la columna izquierda muestra los resultados obtenidos del grupo de hembras y la derecha ratones macho.



**Figura 14. ABC y seguimiento fotográfico a las 12 semanas post-STZ.** A) ABC del porcentaje de cierre de la herida; B) seguimiento fotográfico.

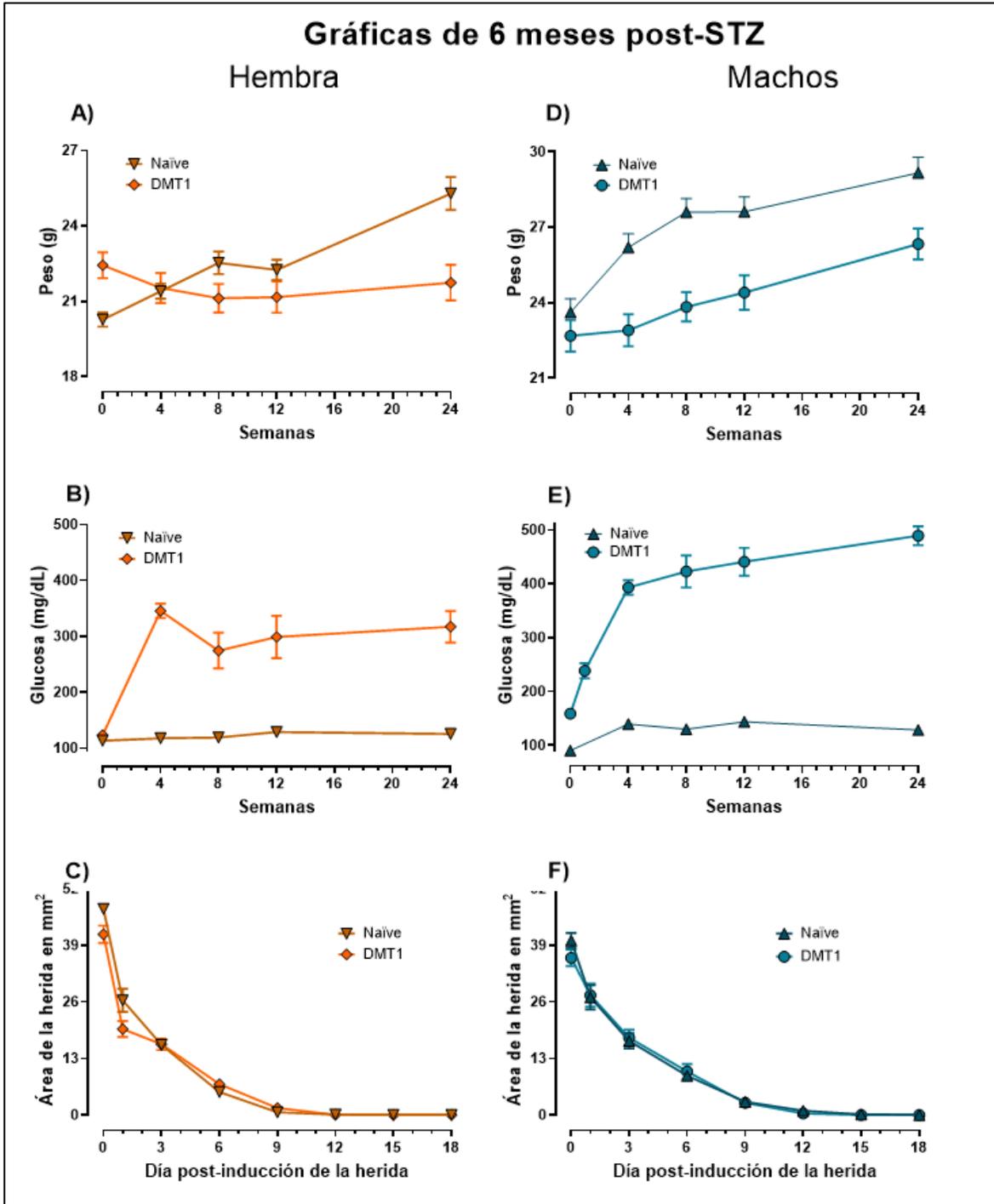
En el seguimiento fotográfico se puede observar cómo fue evolucionando la cicatrización y se puede apreciar como las heridas van evolucionando hasta el cierre total y la formación de una nueva capa epitelial. Cada día muestra diferencias importantes en cada grupo, siendo mayor el área de la lesión en el grupo con DMT1 que en el grupo control. Al día 15 todavía se puede observar parte de la herida en el grupo de hembras con DMT1, mientras que en los demás grupos la cicatrización terminó en el día 12. Al día 18 todos los grupos cicatrizaron.

La Figura 15 muestra el seguimiento de peso, glucosa y cierre de la herida para los grupos de machos y hembras con DMT1 y naïve con 6 meses post-STZ. Se obtuvo una ganancia de peso en los grupos con excepción del grupo de hembras con DMT1. En durante el seguimiento de glucosa, se observa una alta concentración de glucosa en sangre que se mantuvo en niveles altos a lo largo del seguimiento, observando que los machos presentan los niveles más altos en comparación con las hembras.

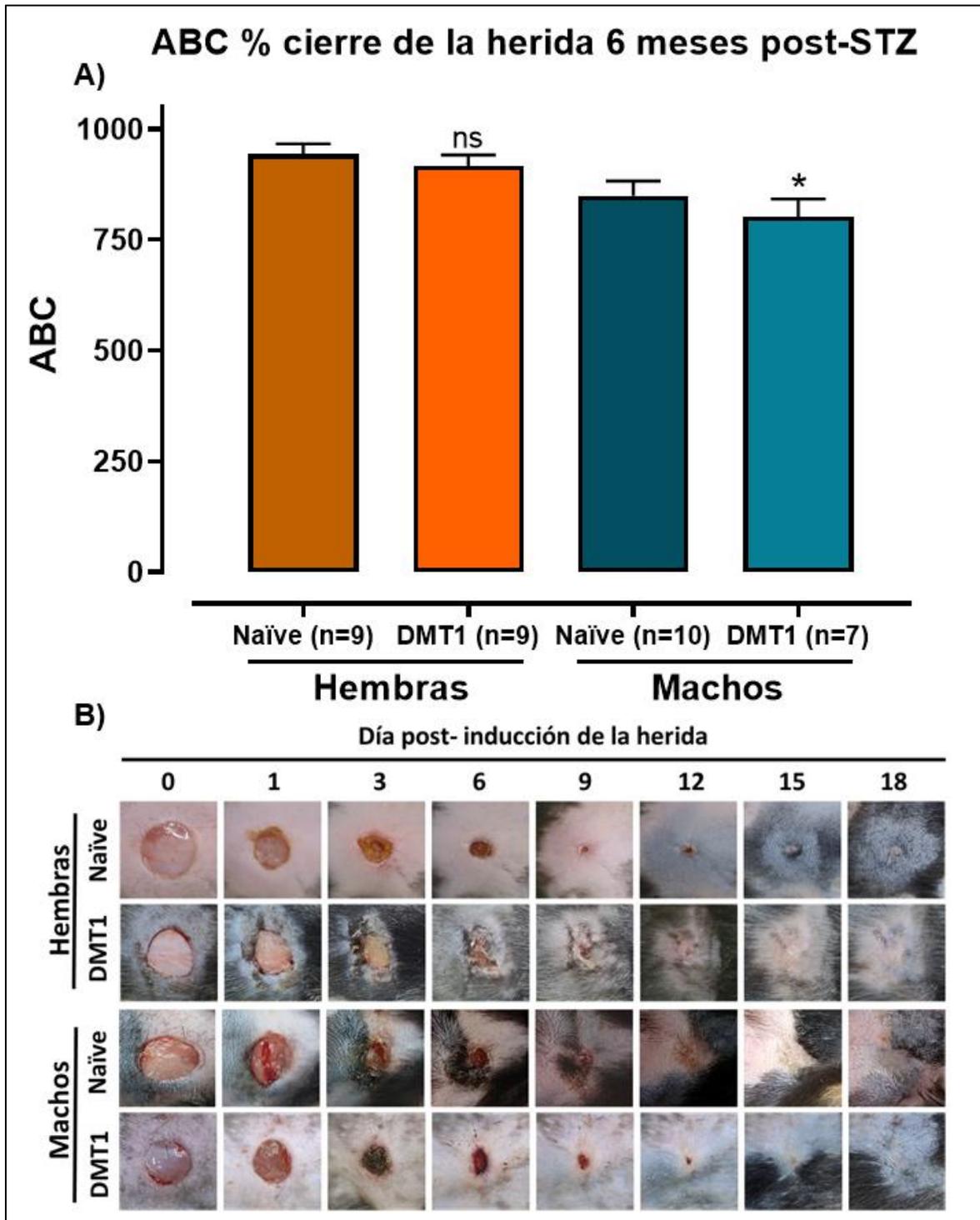
La cinética de cicatrización presenta resultados interesantes, ya que, al tener un mayor tiempo como diabéticos tanto en hembras como en machos, se pensaba que el tiempo de cicatrización se vería afectado dado el tiempo de padecer esta enfermedad, así como el aumento de la concentración de glucosa en la sangre, pero como se puede apreciar en las gráficas no fue así, ya que el comportamiento del cierre de la herida regresó a niveles normales, siendo que no hay una diferencia entre el grupo naïve y el grupo con DMT1 para ambos sexos. Esto también se puede apreciar en la Figura 16, donde se muestra el ABC del porcentaje del cierre de la

herida, así como el seguimiento fotográfico de la cinética de cicatrización, donde no se observan mucha diferencia en comparación con el grupo de DMT1 de 3 meses

post-STZ.



**Figura 15. Seguimientos de 24 semanas post-STZ.** Seguimiento de peso (A y D), glucosa (B y E) y cinética de cicatrización (C y F), la columna izquierda muestra los resultados obtenidos del grupo de hembras y la derecha ratones macho. **Escala de las Figuras C y F. Misma escala para A y B**

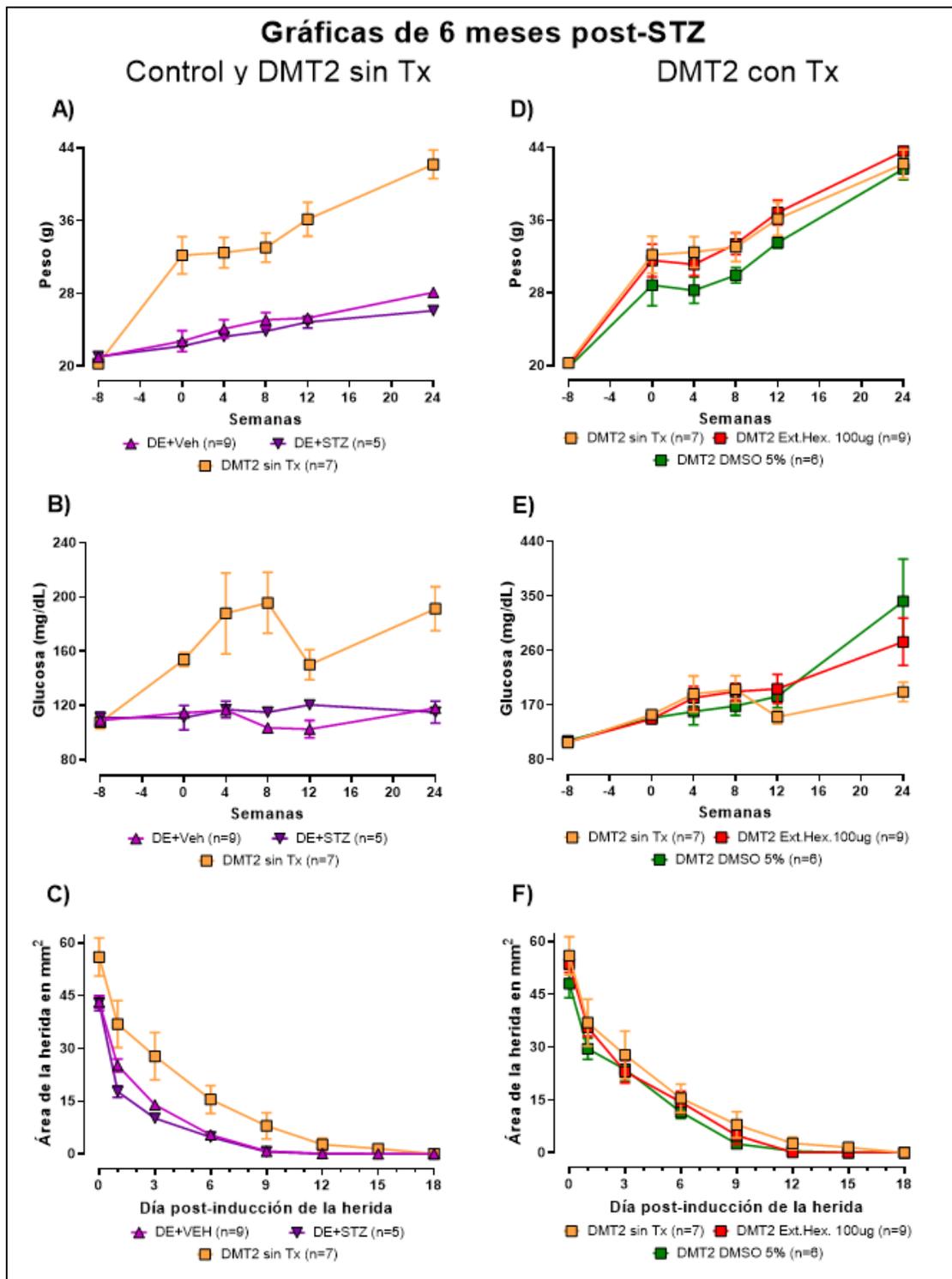


**Figura 16. ABC y seguimiento fotográfico a las 24 semanas post-STZ.** A) ABC del porcentaje de cierre de la herida; B) seguimiento fotográfico

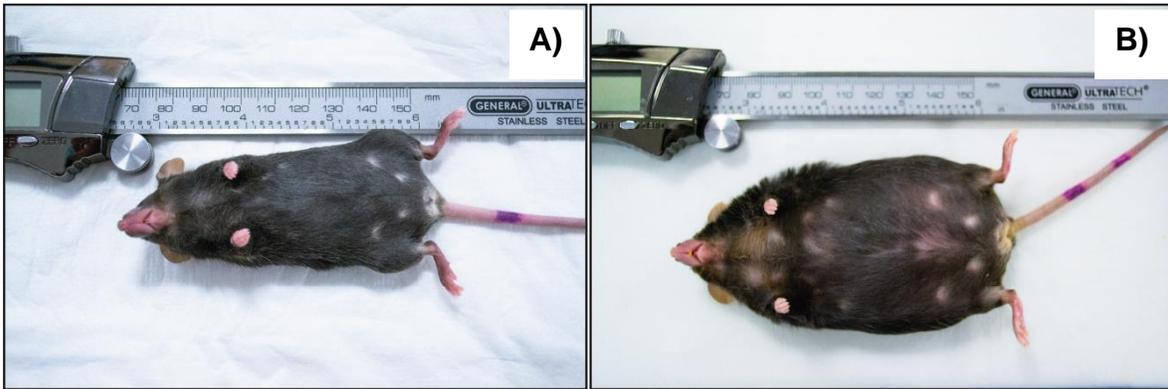
La Figura 17 muestra el seguimiento de peso, glucosa y cierre de la herida para los grupos controles con STZ y Veh y el grupo de DMT2 sin Tx, con Ext. Hex. y DMSO como vehículo con 6 meses post-STZ.

En el seguimiento de peso se puede apreciar que el incremento de peso de los ratones inducidos con DC es superior en comparación con el grupo control que llevaron una DE que se basa en pellets para animales de laboratorio, los resultados también muestran que, tomando en cuenta la semana -8 (momento en que fueron inducidos DC y DE), los ratones con DE tienen una ganancia de peso aproximado de 5 a 7 g en 24 semanas post-STZ o Veh, en comparación, los ratones con DC tienen una ganancia de peso en 24 semanas post-STZ de aproximadamente de 23 g desde la semana -8, lo que representa un incremento de 383% el peso del grupo con DE en comparación al grupo con DC (Figura 18).

Con respecto al seguimiento de glucosa, se observa que existe una diferencia marcada del incremento de esta desde la semana 0 (semana de inducción con STZ) debido a la DC, pero incrementa su valor una vez realizada la inducción a DMT2, donde se puede apreciar valores de glucosa mayores a 160 mg/dL, lo que cumple con el criterio de inclusión, ya que se requieren niveles mayores a 150 mg/dL. Mientras que los valores del grupo DE se mantienen estables durante el tiempo que se tuvo el experimento en curso.



**Figura 17. Seguimiento de DMT2 con 24 semanas post-STZ.** Seguimiento de peso (A y D), glucosa (B y E) y cinética de cicatrización (C y F). A, B y C muestran los resultados de los grupos control y DMT2 sin Tx y C, D y F muestran los resultados de los grupos con DMT2 sin Tx, Ext. Hex 100µg y DMSO al 5%.

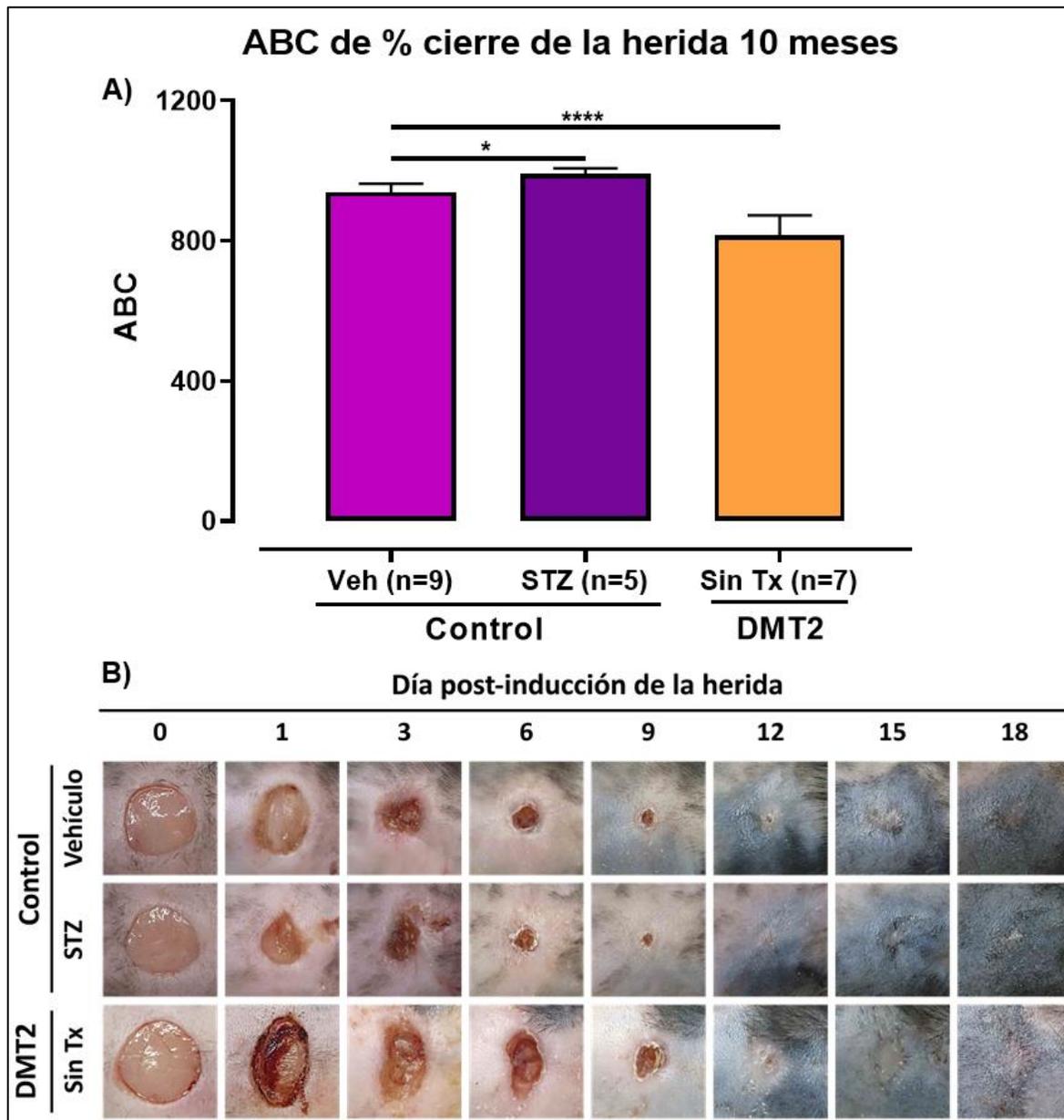


**Figura 18. Diferencia de tamaño de ratón con DE y DC.** Muestra de diferencia de tamaño de ratón con DE (A) y DC (B) tomando como referencia un Vernier.

En la cinética de cicatrización se aprecia el retraso en el cierre de la herida, donde, desde el día 1 existe una pendiente menor en comparación a la pendiente que muestran los grupos controles y esta tendencia se mantiene presente durante el desarrollo de la cinética, además, en los grupos controles se aprecia que su cierre se presenta prácticamente en el día 9, en comparación, el cierre de la herida para el grupo de DMT2 se presenta alrededor del día 15, esto indica que para los ratones con DMT2, existe un retraso en el cierre de la herida de 6 días.

En la Figura 19 se muestra el ABC del porcentaje del cierre de la herida de los grupos controles y DMT2 sin tratamiento, en donde se puede apreciar la diferencia del comportamiento de la herida, teniendo un retraso en el cierre de la herida muy marcada de parte del grupo con DMT2 con respecto a los grupos control, esto es más evidente al revisar el comportamiento de la herida en el seguimiento fotográfico que se realizó para su cuantificación, se puede apreciar el retraso en el cierre de la herida, en el día 9 se observa una de las mayores diferencias, siendo para los

grupos controles, un cierre casi por completo, mientras que para el grupo con DMT2 aún se aprecia un tamaño considerable de la herida.



**Figura 19. ABC y seguimiento fotográfico a las 24 semanas post-STZ.** A) ABC del porcentaje del cierre de la herida; B) seguimiento fotográfico.

En la columna derecha de la Figura 17 se muestran los seguimientos de peso, niveles de glucosa y la cinética de cicatrización de los grupos tratados con DMSO 5%, el extracto hexánico de *A. adstringens* y el grupo sin Tx para comparar.

En el seguimiento de peso se observa que los grupos fueron homogéneos, ya que presentan una misma tendencia con respecto al tiempo. En el seguimiento de glucosa se muestra una diferencia entre los 3 grupos, el grupo tratado con DMSO presenta mayores niveles de glucosa en comparación con los otros 2 grupos, pero todo cumplen con el criterio de inclusión, ya que presentan niveles de glucosa en sangre mayores a 150 mg/dL.

Resulta interesante al observar la cinética de cicatrización de los 3 grupos, ya que no hay diferencias apreciables en el uso del Ext. Hex. como un agente que promueva la aceleración en el cierre de la herida. Era de esperarse que el DMSO no presentara un efecto pro-cicatrizante, pero en el caso del Ext. Hex. se esperaban resultados que favorecieran a la aceleración del cierre de la herida en ratones con DMT2.

Con la finalidad de poder apreciar de mejor manera la cinética de cicatrización en los modelos de DMT1 con 3 meses post-STZ (debido a que es el tiempo donde presentan un mayor retraso en el cierre de la herida como se muestra en la Figura 14), se generaron grupos en los cuales se les indujo una herida con un punch de 10 mm de diámetro, con el cuál se aprecia un mejor contraste entre los grupos con diferentes tratamientos. Estos resultados se pueden observar en la Figura 20A, la cual muestra el ABC del % del cierre de la herida de los grupos naïve, donde el

grupo tratado con agua tiene un mayor retraso en la cicatrización en comparación con el resto de los grupos. El DMSO 5% es el vehículo del Ext. Hex. y no mostró una diferencia significativa, lo que sugiere que el DMSO 5% puede causar interferencia al evaluar el Ext. Hex. por lo que se buscó otro vehículo, al realizar pruebas de solubilidad se seleccionó el Tween 20 al 5%, el cual se evaluó y presentó valores similares a los obtenidos por el DMSO 5%. Debido a que los vehículos del Ext. Hex. muestran tener una actividad procicatrizante, se evaluó el extracto metanólico (Ext. Met.) debido a que es soluble en agua, la Figura 20 muestra que existe una diferencia significativa en comparación con los ratones tratados con agua. El control positivo que se utilizó fue el Hyalo 4.

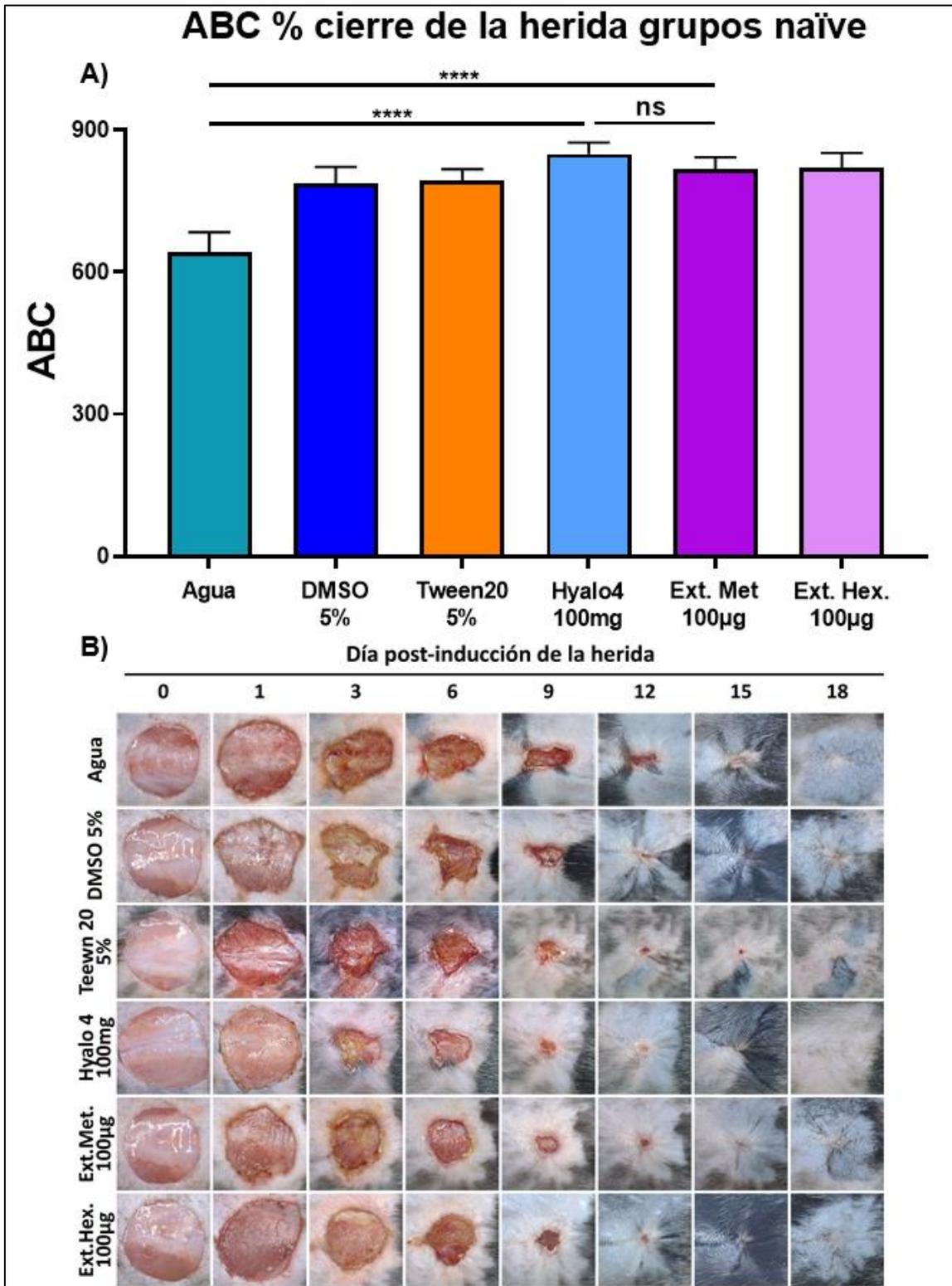
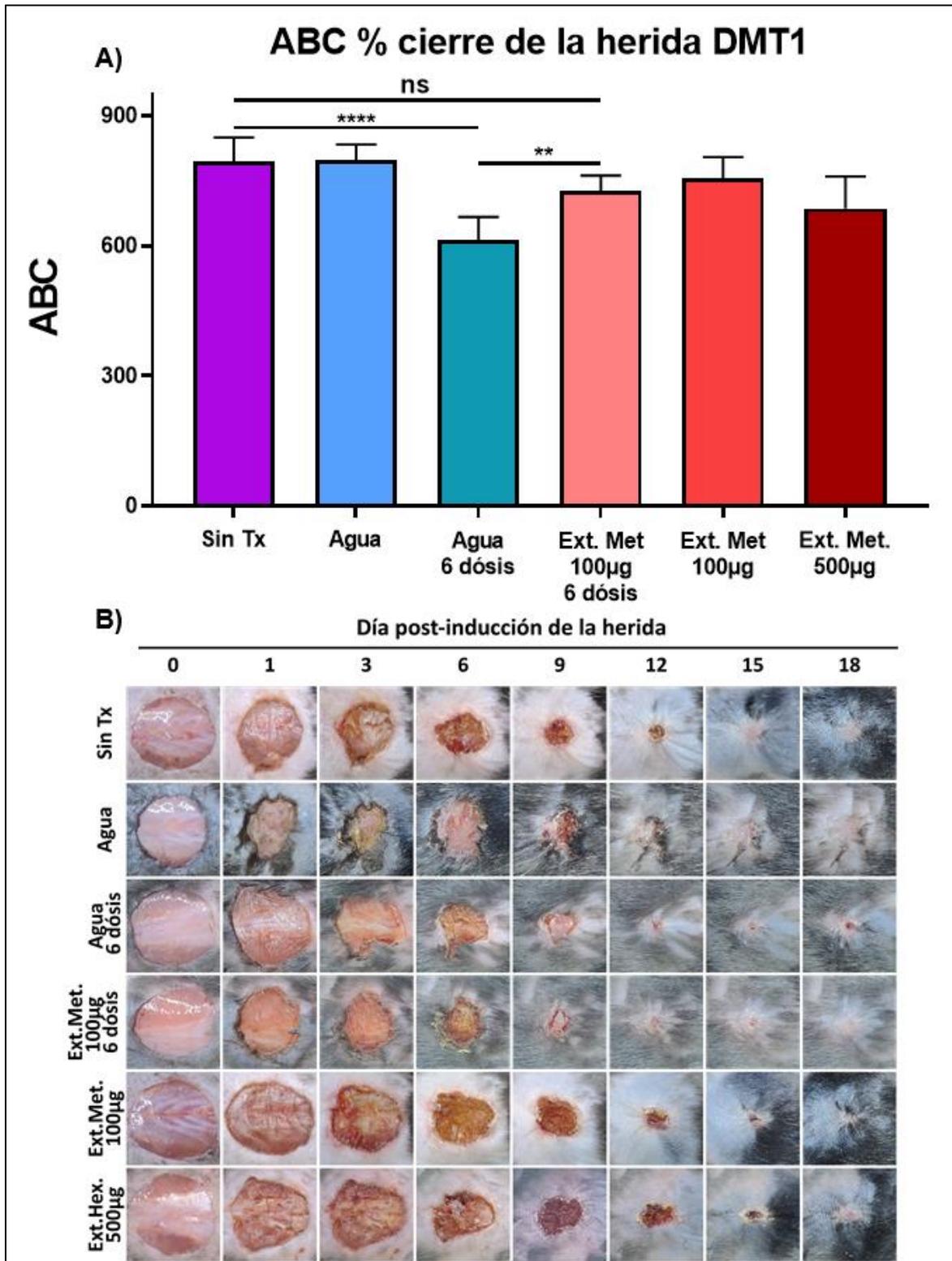


Figura 20. ABC y seguimiento fotográfico de los grupos naïve. A) ABC del porcentaje de cierre de la herida; B) seguimiento fotográfico

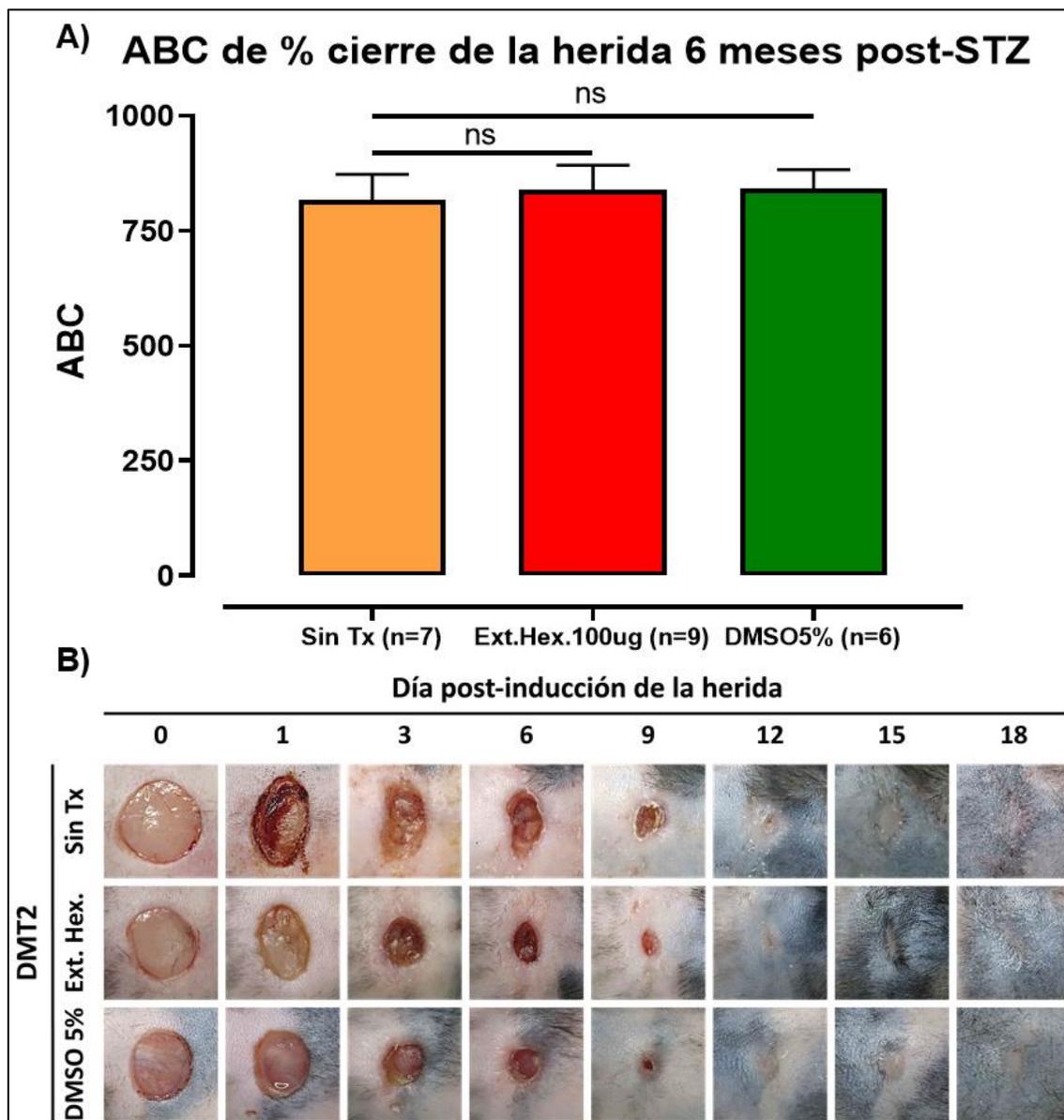
Con base en los resultados obtenidos en los grupos naïve con una herida de 10 mm de diámetro, se observó que el mejor extracto para su evaluación es el Ext. Met. debido a que su vehículo no presenta una actividad procicatrizante que pueda interferir en la evaluación del cierre de la herida.

En la Figura 21A se muestra el ABC del % del cierre de la herida en ratones con DMT1 de 3 meses post-STZ. Los grupos Sin Tx y agua (sólo se administró una dosis) tienen un comportamiento similar. Al evaluar el Ext. Met. con 1 dosis no se observó una diferencia tan marcada como en el caso de los grupos naïve, en este caso se observa un retroceso en el proceso de cicatrización, por lo que este tratamiento no muestra resultados positivos. Otro tratamiento que se evaluó fue aumentar la cantidad de extracto que se agrega por herida, aumentando de 100 µg a 500 µg esperando obtener un resultado positivo, pero como se puede apreciar en la Figura 21A, el aumento de cantidad retrasa aún más el tiempo del cierre de la herida. Al observar que un tratamiento agudo no tiene una respuesta positiva al cierre de la herida, se evaluó un tratamiento crónico, en el cual se administraron 6 dosis de 100 µg de Ext. Met. (2 dosis por 3 días), al compararlo contra el tratamiento de 6 dosis de agua, se puede apreciar que existe una diferencia significativa y no existe diferencia entre el grupo Sin Tx y Ext. Met. 100 µg con 6 dosis, lo que confirma que un tratamiento agudo no favorece la cicatrización en los modelos murinos con DMT1, pero un tratamiento crónico sí acelera la cicatrización comparado con su grupo control, pero comparándolo con el grupo Sin Tx, no muestra una aceleración en el cierre de la herida.



**Figura 21 ABC y seguimiento fotográfico de los grupos DMT1.** A) ABC del porcentaje de cierre de la herida; B) seguimiento fotográfico

En la Figura 22 se muestra el ABC y el seguimiento fotográfico de los grupos tratados con el extracto hexánico del Cuachalalate y DMSO 5% como control negativo. En esta imagen no se observa diferencia entre los ratones con DMT2 que no recibieron Tx y los tratados con Ext. Hex. y DMSO 5%. Mientras que los 2 tratamientos tienen un comportamiento similar en el cierre de la herida.



**Figura 22. ABC y seguimiento fotográfico de grupo con DMT2 a las 24 semanas post-STZ. A)** ABC del porcentaje de cierre de la herida; **B)** Seguimiento fotográfico de las heridas.

## **7. DISCUSIONES**

En el presente proyecto se estudió el cierre de heridas experimentales y se observó la cinética de cicatrización con el objetivo de evaluar el efecto cicatrizante del extracto hexánico de *Amphiptherygium adstringens* en modelos murinos con diabetes mellitus tipo 1 y 2, usando como control a ratones naïve.

### **7.1 Cinética de cicatrización en ratones naïve, con DMT1 y DMT2.**

Debido a que la DM es una enfermedad crónica, se ha visto que conforme pasa el tiempo, la exposición crónica a la hiperglucemia afecta al organismo generando diversas afecciones al cuerpo (80), uno de estos padecimientos son las complicaciones microvasculares, por lo que se buscó el modelo en el cual la herida tuviera el mayor retraso en la cicatrización, de esta forma se indujeron a DMT1 2 grupos, uno de hembras y otro de machos, los cuales a las 12 semanas post-STZ se evaluó la cicatrización. Los resultados de pérdida de peso y aumento de glucosa debido a la inducción a DMT1 con STZ, coinciden con los resultados reportados por Raetz y colaboradores (81).

Como lo menciona Li y colaboradores (82), existe un retraso en el cierre de la herida en los modelos murinos con DMT1, lo que se encontró en el presente trabajo. Sin embargo, quienes tienen el mayor retraso en el cierre de la herida son las hembras con DMT1 de 12 semanas post-STZ, en comparación con los machos de la misma edad. Contrario a lo esperado, en los modelos de DMT1 de 24 semanas post-STZ, se observó que el cierre de la herida fue normal. La hiperglucemia crónica induce

complicaciones que pueden explicar el retraso en la cicatrización, aunque en el grupo de mayor exposición (24 semanas) el proceso de cicatrización fue compensado con mecanismos aún no explicado en el presente trabajo. Pero como lo menciona Aarabi y colaboradores (83) y Zomer y Trentin (1), si bien es un buen acercamiento los modelos de cicatrización en ratones, es importante tomar en cuenta las diferencias que existen entre la piel humana y la piel de los ratones, donde, esta última cuenta de 2 a 3 capas de células en el epidermis mientras que el humano cuenta de 5 a 10 capas de células, además de las propiedades mecanorresistentes de los fibroblastos para acelerar el cierre de la herida ante el estrés de las células que están en la periferia. Esto puede ser una probable explicación por la cual los ratones que presentan DMT1 durante un mayor tiempo, las heridas llegan a tener una cicatrización “normal”.

En el caso de la cicatrización en los modelos con DMT2, la condición de obesidad que presentan genera una inflamación crónica lo que contribuye a que las enfermedades que acompañan a la DMT2 se compliquen (84). Los resultados obtenidos en este estudio indican que existe un retraso en el cierre de la herida en nuestro modelo de DMT2. Han y cols., (85) en su trabajo mencionan que existe una disminución de la angiogénesis en la DMT2, disfunción de las células precursoras endoteliales debido a la hiperglucemia, los niveles de  $O_2$  celular es mayor al normal y los niveles de NO es menor, lo que afecta el cierre de la herida.

## **7.2 Actividad cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 1.**

Existen diferentes modelos murinos para el estudio de heridas (86-88), pero en trabajo se utilizó el modelo de herida de 10 mm de diámetro, debido a que en estudios preliminares en este trabajo con heridas de 6 mm de diámetro se observó que el extracto hexánico del Cuachalalate y su vehículo (DMSO 5%) presentaron cierres de la herida muy similares.

Los resultados obtenidos (Figura 20), con los ratones naïve, los grupos con Ext. Hex. 100µg, DMSO 5% (vehículo) y agua (control negativo), muestran que no existe una diferencia significativa entre el extracto y el DMSO, pero si existe diferencia significativa entre estos 2 y el grupo tratado con agua, lo que sugiere que el DMSO puede actuar como un agente que favorece el cierre de heridas (89-91). Por esta razón se buscó otro solvente para el Ex. Hex., el cual fue el Tween 20. En pruebas de solubilidad, el porcentaje mínimo al cual el extracto se disolvió fue al 5%. Sin embargo, el Tween 20 al 5%, presentó resultados similares al DMSO.

Con base en los resultados obtenidos con los vehículos del Ext. Hex., se optó por evaluar el Ext. Met. ya que es soluble en agua, ya este último no es un agente que favorezca la cicatrización, lo que lo convierte en el vehículo adecuado para este estudio. Principalmente porque el Ext. Met. tiene un comportamiento igual que el Ext. Hex. en el cierre de la herida (Figura 20). Al comparar el Ext. Met. con su vehículo, tenemos como resultado que existe diferencia significativa entre estos 2 grupos. Con esto confirmamos que el extracto hexánico y metanólico favorecen la

cicatrización, debido posiblemente a que sus principales compuestos son triterpenos (74, 92). Estos componentes son una clase muy extendida de fitoquímicos derivados de las plantas, integran metabolitos secundarios con una gran variedad de estructuras químicas, como también abarcan amplias actividades que favorecen la salud de los seres humanos, dentro de estas actividades se encuentran las antiinflamatorias y cicatrizantes (2). Como control positivo se utilizó el Hyalo4, un medicamento que se utiliza como tratamiento para las heridas, su principio activo es el ácido hialurónico, el cual favorece la cicatrización debido a que es un polímero natural del grupo de los glucosaminoglucanos, estos están presentes en muchos tejidos incluyendo la piel, cuando existe una ruptura en esta, el ác. hialurónico impulsa de deposición del fibrinógeno y promueven la movilización de células neutrófilas (93).

Con base en los resultados obtenidos en los grupos naïve, se evaluó el Ext. Met. en los grupos con DMT1, los primeros grupos evaluados fueron Sin Tx, agua (1 dosis postinducción de la herida) y el Ex. Met. 100µg (1 dosis post-inducción de la herida), los resultados no mostraron una diferencia significativa entre ellos, lo que sugiere que el Ext. Met. no tiene un efecto cicatrizante en el modelo de DMT1 como en el grupo naïve. Con esto en mente, se aumentó la dosis a 500µg de extracto sobre la herida. Los resultados obtenidos muestran un mejor efecto cicatrizante aunque las heridas fueron más heterogéneas, ya que a unos ratones provocó una mayor resequedad en la herida que en otros, y como lo menciona Bowers y Franco (94) en las heridas crónicas, el equilibrio de la humedad es una parte esencial pues una

herida húmeda se cura más rápido y tiene menos riesgo de infección. Analizando los datos del Ext. Met. 500µg, se diseñó otro experimento donde la cantidad de extracto administrada fuera mayor a 100µg pero manteniendo la humedad de la herida, por lo que se optó por administrar varias dosis en los días donde empieza la respuesta celular, estos días fueron el 0, 1 y 3 postinducción de la herida, el tratamiento elegido fue administrar 2 dosis de 100µg en cada uno de esos días, una dosis matutina y una vespertina, administrando un total de 600µg de extracto y manteniendo la humedad de la herida. Observando los resultados obtenidos, en la Figura 21A se compara el comportamiento de cada tratamiento, se aprecia que existe una diferencia significativa al comparar el grupo tratado con 6 dosis de Ext. Met. versus el tratamiento de 6 dosis de agua y estadísticamente no hay diferencia significativa entre el grupo sin tratamiento y Ext. Met. 6 dosis, además, al observar la Figura 21B se pueden apreciar pequeñas diferencias en la evolución de la herida; en el grupo Ext. Met. 500µg, la herida es la que menos humedad tiene en comparación al resto de los grupos; el grupo Ext. Met. 100µg, en el día 1, presenta una ligera película que cubre la herida, pero desaparece casi por completo al día 3 formando una costra; el grupo Ext. Met. 100µg 6 dosis, muestra una mejor evolución de la herida, a causa de la aparición de una película que cubre la herida, pero mantiene la humedad, generando así un ambiente estéril de patógenos externos y favoreciendo la migración celular; esto sugiere que un tratamiento crónico es el más adecuado para estos modelos.

### **7.3 Actividad cicatrizante del extracto hexánico del Cuachalalate en ratones con diabetes mellitus tipo 2.**

Al tener la condición de DMT2 y al mismo tiempo obesidad, el comportamiento de la evolución de la herida es diferente en cuestión celular, esto es causado principalmente a la inflamación asociada a la DMT2, caracterizada por un mayor número de macrófagos en diferentes tejidos (causado por la respuesta inflamatoria debido a la obesidad) junto con la producción de TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6 e IL-8. Los macrófagos de las heridas de los ratones diabéticos presentan una transición alterada de los fenotipos M1 a M2 (debido a la elevada concentración de glucosa), lo que puede favorecer el entorno proinflamatorio de la herida y una respuesta deficiente en la cicatrización de la misma (95).

Una posible causa por la cual el extracto del cuachalalate y el DMSO no presentaron efecto cicatrizante, podría ser debido a que estos tratamientos no tienen actividad sobre los macrófagos, los cuales presentan una actividad importante en la respuesta celular de la cicatrización, esto, con respecto a los resultados obtenidos en los grupos naïve y DMT1, donde el DMSO y los extractos del cuachalalate, si presentan una actividad procicatrizante. Sin embargo, no se descartan otros mecanismos cicatrizantes, donde los extractos tampoco tendrían actividad, entre ellos el papel del factor de crecimiento epidérmico que está reducido en la diabetes y que podría explicar el retraso en el proceso de cicatrización observado en estos modelos (79).

## 8. CONCLUSIONES

Los modelos de DMT1 3 meses post-STZ y DMT2 presentan un retraso en la cicatrización en comparación con los ratones naïve, por lo que son modelos adecuados para el estudio los mecanismos involucrados en la cicatrización.

El extracto hexánico podría tener efecto cicatrizante, pero debido a que el DMSO es activo, no se puede diferenciar si la aceleración en el cierre de la herida es causada por el extracto o por el DMSO.

El extracto metanólico tiene con efectos cicatrizantes similares al héxanico con la ventaja de que su vehículo es el agua. Favorece el cierre de la herida en ratones naïve y en los modelos de DMT1 cuando se utilizó un esquema de administración de 2 dosis por día.

El modelo de DMT2 con el estado de obesidad incluido podría ser un buen modelo para evaluar la cicatrización, aunque el extracto hexánico y su vehículo (DMSO) no mostraron efecto cicatrizante en estas condiciones.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Zomer HD, Trentin AG. Skin wound healing in humans and mice: Challenges in translational research. *Journal of dermatological science*. 2018;90(1):3-12.
2. Ghiulai R, Roşca OJ, Antal DS, Mioc M, Mioc A, Racoviceanu R, et al. Tetracyclic and Pentacyclic Triterpenes with High Therapeutic Efficiency in Wound Healing Approaches. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2020;25(23).
3. Vidal-Puig A, Figuerola Pino D, Reynals de Blasis E, Ruiz M, Ruiz Morosini ML. Capítulo 10 - Diabetes mellitus. In: Farreras Valentí P, Rozman C, editors. *Farreras-Rozman Medicina Interna Metabolismo y Nutrición Endocrinología* (Décimo séptimo Edición). Madrid: Elsevier; 2014. p. 73-105.

4. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2013;36 Suppl 1(Suppl 1):S67-74.
5. Kerner W, Brückel J. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2014;122(7):384-6.
6. Ramachandran A. Know the signs and symptoms of diabetes. *The Indian journal of medical research*. 2014;140(5):579-81.
7. Alvin C. Powers DDA. Páncreas endocrino y farmacoterapia de la diabetes mellitus y la hipoglucemia. Goodman & Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica. 13 ed. México: McGrawHill; 2019. p. 863-86.
8. Association AD. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes care*. 2020;44(Supplement\_1):S15-S33.
9. Bonora E, Tuomilehto J. The pros and cons of diagnosing diabetes with A1C. *Diabetes care*. 2011;34 Suppl 2(Suppl 2):S184-90.
10. Yang Q, Vijayakumar A, Kahn BB. Metabolites as regulators of insulin sensitivity and metabolism. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2018;19(10):654-72.
11. Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2018;108:656-62.
12. Titchenell PM, Lazar MA, Birnbaum MJ. Unraveling the Regulation of Hepatic Metabolism by Insulin. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2017;28(7):497-505.
13. Sha W, Hu F, Xi Y, Chu Y, Bu S. Mechanism of Ferroptosis and Its Role in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of diabetes research*. 2021;2021:9999612.
14. Arneth B, Arneth R, Shams M. Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(10).
15. Gordin D, Shah H, Shinjo T, St-Louis R, Qi W, Park K, et al. Characterization of Glycolytic Enzymes and Pyruvate Kinase M2 in Type 1 and 2 Diabetic Nephropathy. *Diabetes care*. 2019;42(7):1263-73.
16. Mauvais-Jarvis F. Gender differences in glucose homeostasis and diabetes. *Physiology & behavior*. 2018;187:20-3.
17. Hassanein M, Shafi T. Assessment of glycemia in chronic kidney disease. *BMC medicine*. 2022;20(1):117.
18. Mahjabeen W, Khan DA, Mirza SA. Role of resveratrol supplementation in regulation of glucose hemostasis, inflammation and oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2: A randomized, placebo-controlled trial. *Complementary therapies in medicine*. 2022;66:102819.
19. Anaya. EC, Craviotto. ML. Bases moleculares de las complicaciones de la diabetes mellitus. In: Martínez MC, Salinas CA, Craviotto ML, Jiménez SH, editors. *Complicaciones crónicas en la diabetes mellitus*. México, D.F.: Alfil; 2010. p. 55-64.
20. Fernando Carrasco N, José Eduardo Galgani F, Marcela Reyes J. Síndrome de resistencia a la insulina. estudio y manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2013;24(5):827-37.

21. Weiss MA, Lawrence MC. A thing of beauty: Structure and function of insulin's "aromatic triplet". *Diabetes, obesity & metabolism*. 2018;20 Suppl 2(Suppl 2):51-63.
22. Kaul K, Tarr JM, Ahmad SI, Kohner EM, Chibber R. Introduction to diabetes mellitus. *Advances in experimental medicine and biology*. 2012;771:1-11.
23. Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(2):165-9.
24. Ighbariya A, Weiss R. Insulin Resistance, Prediabetes, Metabolic Syndrome: What Should Every Pediatrician Know? *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*. 2017;9(Suppl 2):49-57.
25. Beale EG. Insulin signaling and insulin resistance. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research*. 2013;61(1):11-4.
26. Haeusler RA, McGraw TE, Accili D. Biochemical and cellular properties of insulin receptor signalling. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2018;19(1):31-44.
27. Organización Mundial de la S. Informe mundial sobre la diabetes. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2016 2016.
28. Khan RMM, Chua ZJY, Tan JC, Yang Y, Liao Z, Zhao Y. From Pre-Diabetes to Diabetes: Diagnosis, Treatments and Translational Research. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 2019;55(9).
29. Ramachandran A, Snehalatha C, Shetty AS, Nanditha A. Trends in prevalence of diabetes in Asian countries. *World journal of diabetes*. 2012;3(6):110-7.
30. INEGI I, Secretaría de salud. Presentación de resultados. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. 2018.
31. S. Salud. Defunciones por año de registro Secretaría de Salud 2018 [Available from: <http://sinaiscap.salud.gob.mx:8080/DGIS/>].
32. Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *Lancet (London, England)*. 2012;379(9833):2279-90.
33. FID. Atlas de la diabetes de la FID. Federación Internacional de Diabetes. 2019;9:180.
34. World Health O. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019 2019.
35. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet (London, England)*. 2018;391(10138):2449-62.
36. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet (London, England)*. 2014;383(9911):69-82.
37. Tomita T. Apoptosis of pancreatic  $\beta$ -cells in Type 1 diabetes. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 2017;17(3):183-93.
38. Pirot P, Cardozo AK, Eizirik DL. Mediators and mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 diabetes. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2008;52(2):156-65.
39. Escobedo-Hinojosa WI, Del Carpio JD, Palacios-Espinosa JF, Romero I. Contribution to the ethnopharmacological and anti-*Helicobacter pylori* knowledge of *Cyrtocarpa procera* Kunth (Anacardiaceae). *J Ethnopharmacol*. 2012;143(1):363-71.

40. Donath MY, Dinarello CA, Mandrup-Poulsen T. Targeting innate immune mediators in type 1 and type 2 diabetes. *Nature reviews Immunology*. 2019;19(12):734-46.
41. Malone JI, Hansen BC. Does obesity cause type 2 diabetes mellitus (T2DM)? Or is it the opposite? *Pediatric diabetes*. 2019;20(1):5-9.
42. Thakur R, Jain N, Pathak R, Sandhu SS. Practices in wound healing studies of plants. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. 2011;2011:438056.
43. Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Advances in skin & wound care*. 2012;25(7):304-14.
44. Lorenz H, Longaker M, Li M, Norton J, Bollinger R, Chang A, et al. Wounds: Biology, Pathology, and Management. 2003. p. 77-88.
45. Arthur C. Guyton JEH. *Tratado de fisiología médica*. 12ed. España: ELSEVIER; 2011. p. 428.
46. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*. 2007;25(1):9-18.
47. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019;99(1):665-706.
48. Cañedo-Dorantes L, Cañedo-Ayala M. Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. *International journal of inflammation*. 2019;2019:3706315.
49. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2000;321(7258):405-12.
50. Berlanga-Acosta J, Valdez-Pérez C, Savigne-Gutierrez W, Mendoza-Marí Y, Franco-Perez N, Vargas-Machiran E, et al. Cellular and molecular insights into the wound healing mechanism in diabetes %J *Biología Aplicada*. 2010;27:255-61.
51. Davis FM, Kimball A, Boniakowski A, Gallagher K. Dysfunctional Wound Healing in Diabetic Foot Ulcers: New Crossroads. *Current diabetes reports*. 2018;18(1):2.
52. Blancas JAE. Pie diabetico. In: Alfil, editor. *Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus*. México D.F.2010. p. 187-206.
53. García EC, Solís IM. *Manual de fitoterapia*. España: ELSEVIER; 2016.
54. Mahesh B, Satish S. Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant Against Plant and Human Pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*. 2008;4 (2008):839-43.
55. Khumalo GP, Van Wyk BE, Feng Y, Cock IE. A review of the traditional use of southern African medicinal plants for the treatment of inflammation and inflammatory pain. *J Ethnopharmacol*. 2022;283:114436.
56. Baulies Romero G, Torres Castilla RM. Actualización en fitoterapia y plantas medicinales. *FMC - Formación Médica Continuada en Atención Primaria*. 2012;19(3):149-60.
57. Schulze-Kaysers N, Feuereisen MM, Schieber A. Phenolic compounds in edible species of the Anacardiaceae family – a review. *RSC Advances*. 2015;5(89):73301-14.

58. Wannan B. Analysis of Generic Relationships in Anacardiaceae. *Blumea - Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*. 2006;51:165-95.
59. Pell SK. Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Louisiana State University; 2004.
60. Safavi M, Shams-Ardakani M, Foroumadi A. Medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Pharmaceutical biology*. 2015;53(7):939-60.
61. Rosas-Acevedo H, Terrazas T, González-Trujano ME, Guzmán Y, Soto-Hernández M. Anti-ulcer activity of *Cyrtocarpa procera* analogous to that of *Amphipterygium adstringens*, both assayed on the experimental gastric injury in rats. *J Ethnopharmacol*. 2011;134(1):67-73.
62. Mbaoji F, Peter I, Onwuka A. Anti-inflammatory activity of the methanol leaf extract and fractions of *Lannea barteri* Oliv. Engl. (Anacardiaceae) in rats. 2020:2020.
63. Garrido-Suárez BB, Garrido G, Castro-Labrada M, Merino N, Valdés O, Rodeiro I, et al. Anti-hypernociceptive effect of mangiferin in persistent and neuropathic pain models in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2014;124:311-9.
64. Imran M, Arshad MS, Butt MS, Kwon JH, Arshad MU, Sultan MT. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids in health and disease*. 2017;16(1):84.
65. Isik S, Tayman C, Cakir U, Koyuncu I, Taskin Turkmenoglu T, Cakir E. Sumac (*Rhus coriaria*) for the prevention and treatment of necrotizing enterocolitis. *Journal of food biochemistry*. 2019;43(12):e13068.
66. Elagbar ZA, Shakya AK, Barhoumi LM, Al-Jaber HI. Phytochemical Diversity and Pharmacological Properties of *Rhus coriaria*. 2020;17(4):e1900561.
67. Poljšak N, Kreft S, Kočevar Glavač N. Vegetable butters and oils in skin wound healing: Scientific evidence for new opportunities in dermatology. *Phytotherapy research : PTR*. 2020;34(2):254-69.
68. Djerrou Z, Maameri Z, Hamdi-Pacha Y, Serakta M, Riachi F, Djaalab H, et al. Effect of virgin fatty oil of *Pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*. 2010;7(3):258-63.
69. UNAM. Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana México2009 [Available from: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=amphipterygium-adstringens>].
70. Castillo-Juárez I, Rivero-Cruz J, Celis H, Romero I. Anti-*Helicobacter pylori* activity of anacardic acids from *Amphipterygium adstringens*. *J Ethnopharmacol*. 2007;114:72-7.
71. Robles-Zepeda RE, Velázquez-Contreras CA, Garibay-Escobar A, Gálvez-Ruiz JC, Ruiz-Bustos E. Antimicrobial activity of Northwestern Mexican plants against *Helicobacter pylori*. *Journal of medicinal food*. 2011;14(10):1280-3.
72. Trenado-Uribe M, Silva-Miranda M, Rivero-Cruz JF, Rodríguez-Peña K, Espitia-Pinzón CI, Rodríguez-Sanoja R, et al. Antimycobacterial activity of an anthracycline produced by an endophyte isolated from *Amphipterygium adstringens*. *Molecular biology reports*. 2018;45(6):2563-70.
73. Castillo-Juárez I, García-Contreras R, Velázquez-Guadarrama N, Soto-Hernández M, Martínez-Vázquez M. *Amphipterygium adstringens* anacardic acid mixture inhibits quorum sensing-

controlled virulence factors of *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of medical research*. 2013;44(7):488-94.

74. Oviedo-Chávez I, Ramírez-Apan T, Soto-Hernández M, Martínez-Vázquez M. Principles of the bark of *Amphipterygium adstringens* (Julianaceae) with anti-inflammatory activity. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2004;11(5):436-45.

75. Hernández J, González L, Faba G, Aguilar C, Rivera J, Hernández M. Taller de resultados. Priorización de acciones para mitigar el impacto social de la diabetes en México. *Acciones para enfrentar a la diabetes*. 2015;1(1):683-706.

76. Liu Z, Dumville JC, Hinchliffe RJ, Cullum N, Game F, Stubbs N, et al. Negative pressure wound therapy for treating foot wounds in people with diabetes mellitus. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2018;10(10):Cd010318.

77. Solares F, Gálvez M, editors. *Manual para una producción sustentable de corteza de Cuachalalate*. Zacatepec, Morelos, México: Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación; 2002.

78. Leffa DD, Valvassori SS, Varela RB, Lopes-Borges J, Daumann F, Longaretti LM, et al. Effects of palatable cafeteria diet on cognitive and noncognitive behaviors and brain neurotrophins' levels in mice. *Metabolic brain disease*. 2015;30(4):1073-82.

79. Iván MRJ. *Comparación de los niveles del factor de crecimiento epidérmico en plasma de animales diabéticos y su relación con el proceso de cicatrización*. Cuernavaca, Morelos: Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2011.

80. Faselis C, Katsimardou A, Imprialos K, Deligkaris P, Kallistratos M, Dimitriadis K. Microvascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Current vascular pharmacology*. 2020;18(2):117-24.

81. Raetz S, Bierhalter H, Schoenherr D, Parameswaran N, McCabe LR. Estrogen Deficiency Exacerbates Type 1 Diabetes-Induced Bone TNF- $\alpha$  Expression and Osteoporosis in Female Mice. *Endocrinology*. 2017;158(7):2086-101.

82. Li Q, Jiao L, Shao Y, Li M, Gong M, Zhang Y, et al. Topical GDF11 accelerates skin wound healing in both type 1 and 2 diabetic mouse models. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2020;529(1):7-14.

83. Aarabi S, Bhatt KA, Shi Y, Paterno J, Chang EI, Loh SA, et al. Mechanical load initiates hypertrophic scar formation through decreased cellular apoptosis. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2007;21(12):3250-61.

84. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022;55(1):31-55.

85. Han X, Tao Y, Deng Y, Yu J, Sun Y, Jiang G. Metformin accelerates wound healing in type 2 diabetic db/db mice. *Molecular medicine reports*. 2017;16(6):8691-8.

86. Shao Y, Dang M, Lin Y, Xue F. Evaluation of wound healing activity of plumbagin in diabetic rats. *Life sciences*. 2019;231:116422.

87. Kumar V, Khan A, Nagarajan K. Animal models for the evaluation of wound healing activity. 2013;3:93-107.

88. Ban E, Jeong S, Park M, Kwon H, Park J, Song EJ, et al. Accelerated wound healing in diabetic mice by miRNA-497 and its anti-inflammatory activity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;121:109613.
89. Guo W, Qiu W, Ao X, Li W, He X, Ao L, et al. Low-concentration DMSO accelerates skin wound healing by Akt/mTOR-mediated cell proliferation and migration in diabetic mice. *British journal of pharmacology*. 2020;177(14):3327-41.
90. Wichaiyo S, Svasti S, Supharattanasitthi W, Morales NP. Dasatinib induces loss of vascular integrity and promotes cutaneous wound repair in mice. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2021;19(12):3154-67.
91. Kant V, Kumar M, Jangir BL, Kumar V. Temporal Effects of Different Vehicles on Wound Healing Potentials of Quercetin: Biochemical, Molecular, and Histopathological Approaches. *The international journal of lower extremity wounds*. 2020:1534734620977582.
92. Arrieta J, Benitez J, Flores E, Castillo C, Navarrete A. Purification of gastroprotective triterpenoids from the stem bark of *Amphipterygium adstringens*; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. *Planta Med*. 2003;69(10):905-9.
93. Graça MFP, Miguel SP, Cabral CSD, Correia IJ. Hyaluronic acid-Based wound dressings: A review. *Carbohydrate polymers*. 2020;241:116364.
94. Bowers S, Franco E. Chronic Wounds: Evaluation and Management. *American family physician*. 2020;101(3):159-66.
95. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of cellular physiology*. 2018;233(9):6425-40.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



## MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

### Voto Sinodal.

#### COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el **C. Jiménez Música Antares Sinhue**, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10036907**, y que lleva por título **CINÉTICA DE CICATRIZACIÓN DEL CUACHALALATE (*Amphipterygium adstringens*) EN MODELOS EXPERIMENTALES CON DIABETES MELLITUS TIPO I Y TIPO II** ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

A t e n t a m e n t e

---

Dra. Gabriela Castañeda Corral  
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 03 días del mes de MAYO de 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**GABRIELA CASTAÑEDA CORRAL | Fecha:2023-05-05 15:25:04 | Firmante**

Cf/TvZdjgY1mjl/+8xBGVAO+UcqBlyJpGr1yfk4jy2+4ss5Im/iyZ6u8ETWvnJMio6Zeh+fWskDPQxHXew65Xk3c69e2JmM6xsQJ8entZ85sRGIvnh5+XhU+roYFaz+rsPG4/l8B5EAAr uopC1cG7zna37YT68pLvDc0tHFe55dR7lje5AORHM1SNIW5eRvKgMmVpM2n7IA//j6yHmPwjfKHBnZ0ZMu0Rt2alX9yP6QrX7BsgajznaqUPSyYfDDI8K67ca3xj8qimiF7D0agFC4 PFeJ0KGFa+1DUW4/2vCGYpjSRR3IFm4Udvjr/PbgnLPzDJl9q/yxgzM8khu9ag==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[WBUFewG3Y](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/adUlaHu3RpAH9OT1amKuFG7QPpcg6M1D>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



## MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

### Voto Sinodal.

**COMISIÓN ACADÉMICA DE  
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS  
DE LA NUTRICIÓN  
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el **C. Jiménez Múgica Antares Sinhue**, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10036907**, y que lleva por título **CINÉTICA DE CICATRIZACIÓN DEL CUACHALALATE (*Amphipterygium adstringens*) EN MODELOS EXPERIMENTALES CON DIABETES MELLITUS TIPO I Y TIPO II** ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

A t e n t a m e n t e

---

Dra. Dolores Azucena Salazar Piña  
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 03 días del mes de MAYO de 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**DOLORES AZUCENA SALAZAR PIÑA | Fecha:2023-05-03 20:12:01 | Firmante**

hNqKFw8CyzWaDvZwaez2QbUS+/XaXxgGSo45MrpZstPPKin++dqp3SJXOR3xtM0luzh3Ju5199UrcX4jDuytYOhFeE2CTMoZVkJqH5yavxo6lphkDNWLFHSz+Q5TgOPwjrTawrC9SiJgWqi7wqaKMZEULZZT4asCTCtcamQjacyiAiHIPBA4wXeqJsdVdPPtrpdG7xrFqN/4TLxHt2ZU6RDjhE7uzcDHvyVrWqZxyWp5eg164Oh4XiF5la0T0Sqi+D4FTnIPXJvHxA61hP8pGKIKqt1shAc53auKA4GzjVZLKPSzawuP26PoiGoH4d3BfqncMDijQ+1zT9EfbYg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[Qbp92sDhY](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/UseFu2lho3mwXr6vSnnWi3UHCEyVGk6j>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



## MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

### Voto Sinodal.

#### COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el **C. Jiménez Música Antares Sinhue**, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10036907**, y que lleva por título **CINÉTICA DE CICATRIZACIÓN DEL CUACHALALATE (*Amphipterygium adstringens*) EN MODELOS EXPERIMENTALES CON DIABETES MELLITUS TIPO I Y TIPO II** ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

A t e n t a m e n t e

\_\_\_\_\_  
Dr. Juan José Acevedo Fernández  
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 03 días del mes de MAYO de 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**JUAN JOSE ACEVEDO FERNANDEZ** | Fecha:2023-05-05 15:13:20 | Firmante

YBM+/YMebM1OetgrtuwmXFRzkwo2kS8L8LMCfqbMIEpfT34i8Eb1bA5FAbbyWZFxZkMKMC7f44ks4W9T5F1T+uM+iu7UEyhyFTKwOXVeeKOXoU7LLd/LS4AIURQXjRPr5mXQ  
AtAj+0vu0GAXTpfk5EsaVbNGUNEg8+XMv1uKk3sqpi7psx42APwPURLvH+tRwtifNnkA7ovxAf6vt1dnTd7gJk/qJkBWm2hZtN/yWQvwHNZ/ZRQDAeOEyFNTRCGDfiP6SVf7uYez  
RNvQOZgFtvBnatEPAMxyFXIQnLByJJA1eNmZFTXje5SHxsC0/RmPswmFkd8pizEDC/NBeGIXw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



**9IIFi0EAD**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/6vbMTCCwwFLf9ergKKCfi14JT05Gdbhg>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



## MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

### Voto Sinodal.

**COMISIÓN ACADÉMICA DE  
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS  
DE LA NUTRICIÓN  
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el **C. Jiménez Múgica Antares Sinhue**, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10036907**, y que lleva por título **CINÉTICA DE CICATRIZACIÓN DEL CUACHALALATE (*Amphipterygium adstringens*) EN MODELOS EXPERIMENTALES CON DIABETES MELLITUS TIPO I Y TIPO II** ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dra. María Araceli Ortiz Rodríguez  
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 04 días del mes de MAYO de 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**MARIA ARACELI ORTIZ RODRIGUEZ | Fecha:2023-05-04 14:15:46 | Firmante**

Us+fyWOIJMyUyeyuS/PkEJwlhXvS0WsOgRR//d1/+BO2pfiZvKNKuLEVYeFaGnl3ZKKCo8MKrsvLg2JaM/Tq0WpQTchOqhoul9k3foDofTriaWxyZ7yu66RqehZkKsl493jpSmdGJYQzgb+kEtIWTdvf7kQ+ggjKdYccKeRajgHdA2AuyDEHlShQFRSey8uCqYxdy0XEK89Y3/37/NMzHlMisptdvPB9hWqjhGkg50ooS5HY38PvKd2ltdmWJB7LshA4dtk9GnQHkH0FBnhdDy/v7kXs42b37uZV8/ofN6Gi6NPmeuH0FK7PkWfYpPkC+Yl8YbzMdDq0UhME8Dx5pg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[IH0cZu29r](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/WyBsA4Lucl0lwyzPv1uv7tXXH7z1KOSj>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



## MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

### Voto Sinodal.

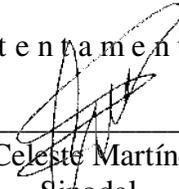
#### COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el **C. Jiménez Múgica Antares Sinhue**, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10036907**, y que lleva por título **CINÉTICA DE CICATRIZACIÓN DEL CUACHALALATE (*Amphipterygium adstringens*) EN MODELOS EXPERIMENTALES CON DIABETES MELLITUS TIPO I Y TIPO II** ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

A t e n t a m e n t e

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez  
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 04 días del mes de MAYO de 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**OLLIN CELESTE MARTINEZ RAMIREZ | Fecha:2023-05-04 08:20:24 | Firmante**

qBQswTdd4jJlx3MHa/i8ulwdGSW9UaWNe//PkROtMDpSEubsNcxLUn9ZviNofsdvsJ6GaP/I0ktieNdlsaKTR3sg7tMq+fMdk115h86lCN+mTqs9ZzazK0LSRSueTs+yj0/CqY9Y6X+A  
YhqPIYLZMiqskw0bNYHkHhZDr0ZHiWQE5sW9ZLSmGbSeRY2ve7HsxE/fgiuErb9YqcwjWEMk33dNsbWUgZ4rnjqqiEyitLZMhplLO9/X8TGGkpZ+QkMrUkNIQ0HdF5yByIV1ePGb7  
il5ce2g29h5AadX/wyuo6f95Zy+czUCPgF1y6XnO2Wk+qBaTCTmmGKaqJ+Qtq2ugrA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[oEZalloi1](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Ky1jaT84DT386eMSAlneghCF0F90TZ7P>

