Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Facultad de Nutrición

“Evaluación de la actividad cicatrizante de la inulina de achicoria y agave azul *in vitro* e *in vivo* en un modelo murino.”

Tesis

Que para obtener el título de:

MAESTRO EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

Presenta:

Méd. Luis Fabián Sánchez Méndez

Director de tesis:

Dr. Juan José Acevedo Fernández

Codirector de tesis:

Dr. Eduardo Lira Díaz

Comité Tutoral:

Dra. Margarita de Lorena Ramos García

Dra. Dolores Azucena Salazar Piña

Dra. Berenice Andrade Carrera

Cuernavaca, Morelos **Noviembre, 2026**

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, mi esposo y familia por ser mis pilares y mi fortaleza, por su amor, apoyo incondicional y por acompañarme en cada paso de este camino.

Al Dr. Juan José Acevedo Fernández, director de esta tesis, por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto de investigación en su laboratorio, así como por su orientación y valiosas aportaciones

A mi codirector, Eduardo Lira, por compartir sus conocimientos, enseñarme y acercarme al fascinante mundo del cultivo celular.

A la Mtra. Elizabeth Negrete, por preocuparse por nosotros, cuidarnos, brindarnos su cariño, su amistad y sus risas, y hacerme sentir acompañado y en familia, incluso lejos de casa. Así como por su apoyo y enseñanzas durante el trabajo con los animales de laboratorio.

A mis compañeros de maestría y de laboratorio, por su amistad, apoyo y por hacer mucho más ameno este camino. Gracias por cada experiencia compartida y, especialmente, por hacerme sentir parte de México.

A mi comité tutorial, por sus valiosas recomendaciones y observaciones, que contribuyeron al fortalecimiento de esta investigación.

A todos los profesores que, de una forma u otra, contribuyeron a mi formación académica y profesional, compartiendo sus conocimientos y experiencias.

Finalmente, agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo otorgado mediante la beca de maestría No. 2064614, que hizo posible la realización de mis estudios de posgrado y contribuyó al desarrollo del presente proyecto.

RESUMEN

La cicatrización de heridas constituye una respuesta fundamental de restauración de la integridad tisular ante una lesión. En la Diabetes Mellitus este proceso suele estar comprometido, lo que provoca una cicatrización deficiente que da lugar a úlceras crónicas y complicaciones graves de difícil manejo terapéutico. El uso de compuestos de origen natural representa una opción terapéutica prometedora; la inulina, ha demostrado efectos antinflamatorios, antioxidantes, inmunomoduladores y con capacidad para actuar como andamio biológico, lo que la posiciona como una candidata potencial para mejorar el proceso de cicatrización. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de inulina de achicoria y agave azul sobre la actividad cicatrizante *in vitro* en las líneas celulares de queratinocitos (HaCaT) y fibroblastos (HDFn), *e in vivo* en modelo murino. La viabilidad celular se determinó mediante el ensayo de MTT tras la exposición a concentraciones de inulina desde 12.5 hasta 1600 µg/ml y la capacidad migratoria celular mediante el modelo de cierre de herida *in vitro,* cuantificando el porcentaje de cierre a 24 y 48 horas. La cinética de cicatrización *in vivo* de heridas cutánea inducidas en ratones CD1 se evaluó mediante el análisis fotográfico y cuantificación del área de la herida en el software ImageJ. Las inulinas no presentaron citotoxicidad en las concentraciones evaluadas en ninguna de las líneas celulares, con medias globales de viabilidad celular entre 94.7% y 126.2%. Asimismo, las inulinas de achicoria (SIGMA) y agave azul mostraron mejores porcentajes de cierres de herida por migración celular, evidenciándose una relación dosis-respuesta con incremento en el porcentaje de cierre de herida a dosis más elevadas. En el modelo murino, las inulinas promovieron una reducción progresiva del área de la herida respecto al control negativo. Estos resultados avalan la potencial aplicación de la inulina como alternativa de origen natural en terapias dirigidas a favorecer la cicatrización de heridas.

Palabras claves: DIABETES MELLITUS, INULINA, CICATRIZACIÓN, FIBROBLASTOS, QUERATINOCITOS.

ABSTRACT

Wound healing is a fundamental response for restoring tissue integrity to injury. In diabetes mellitus, this process is often compromised, leading to impaired healing that results in chronic ulcers and serious complications that are difficult to manage therapeutically. The use of naturally derived compounds represents a promising therapeutic option; inulin has demonstrated anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects, as well as the ability to act as a biological scaffold, positioning it as a potential candidate for improving the healing process. The objective of this study was to evaluate the effect of chicory and blue agave inulin on wound healing activity *in vitro* in keratinocyte (HaCaT) and fibroblast (HDFn) cell lines, and *in vivo* in a murine model. Cell viability was determined using the MTT assay after exposure to inulin concentrations ranging from 12.5 to 1600 µg/ml, and cell migration capacity was assessed using the *in vitro* wound closure model, quantifying the percentage of closure at 24 and 48 hours. The *in vivo* wound healing kinetics of induced skin wounds in CD1 mice were evaluated by photographic analysis and quantification of the wound area using ImageJ software. Inulins showed no cytotoxicity at the concentrations evaluated in any of the cell lines, with overall cell viability ranging from 94.7% to 126.2%. Chicory (SIGMA) and blue agave inulins showed improved wound closure rates through cell migration, demonstrating a dose-response relationship with increased wound closure percentages at higher doses. In the murine model, inulins promoted a progressive reduction in wound area compared to the negative control. These results support the potential application of inulin as a natural alternative in therapies aimed at promoting wound healing.

Keywords: DIABETES MELLITUS, INULIN, WOUND HEALING, FIBROBLASTS, KERATINOCYTES.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS II
RESUMEN IV
ABSTRACT V
ÍNDICE DE FIGURAS VIII
ÍNDICE DE TABLAS X
ABREVIATURAS XI

1. ANTECEDENTES 1
1.1 DIABETES MELLITUS 1
1.1.1 Epidemiología 1
1.1.2 Fisiopatología 2
1.1.3 Cuadro clínico 3
1.1.4 Diagnóstico 3
1.1.5 Complicaciones 4
1.1.6 Pie diabético 4
1.2 CICATRIZACIÓN Y ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS 5
1.2.1 Fisiología de la cicatrización de heridas 6
1.2.2 Alteraciones del proceso de cicatrización en la Diabetes mellitus (DM) 9
1.2.3 Tratamiento convencional de heridas 11
1.2.4 Uso de productos naturales en la cicatrización 13
1.2.5 Polisacáridos como agentes terapéuticos en cicatrización 14
1.2.6 Antecedentes *in vitro* e *in vivo* 14
1.3 INULINA 17
1.3.1. Efecto de la inulina en la cicatrización 18
2. JUSTIFICACIÓN 20
3. HIPÓTESIS 21
4. OBJETIVOS 21
4.1 Objetivo General 21
4.2 Objetivos Específicos 21
5. METODOLOGÍA 22
5.1. Fase I *in vitro* 22
5.1.1 Preparación de células y condiciones de cultivo 22

5.1.2 Ensayo de viabilidad celular ... 23
5.1.3 Ensayo de migración de celular ... 23
5.2. Fase II *in vivo* ... 24
5.2.1 Animales ... 24
5.2.2 Diseño experimental ... 24
5.2.3 Inducción de herida ... 24
5.2.4 Cinética de cicatrización ... 25
5.3 Análisis estadístico ... 25
5.4 Aspectos éticos y de bioseguridad ... 26
5.5 Recursos y colaboraciones ... 26
6. RESULTADOS ... 27
6.1 Ensayo de viabilidad celular en queratinocitos ... 27
6.2 Ensayo de viabilidad celular en fibroblastos ... 31
6.3 Ensayo de migración celular en queratinocitos ... 34
6.4 Ensayo de migración celular en fibroblastos ... 40
6.5 Cinética de cicatrización en modelo murino ... 46
7. DISCUSIÓN ... 50
8. CONCLUSIONES ... 59
9. PERSPECTIVAS ... 60
10. ANEXOS ... 61
A. Ficha técnica de Inulina de achicoria (SIGMA) ... 61
B. Ficha técnica de Inulina de achicoria (suplemento) ... 62
C. Ficha técnica de Inulina de Agave azul (suplemento) ... 63
D. Ficha técnica de medio de cultivo celular (DMEM-F12) ... 64
E. Ficha técnica de Pirfenidona ... 66
11. BIBLIOGRAFÍA ... 67

ÍNDICE DE FIGURAS

Número	Figura	Página
1	Fases de la cicatrización y principales alteraciones	7
2	Efecto de la inulina sobre la viabilidad celular de queratinocitos.	29
3	Área bajo la curva de los tres tipos de inulina sobre viabilidad celular en queratinocitos	30
4	Microfotografías del efecto de las tres inulinas sobre la viabilidad celular de queratinocitos	31
5	Efecto de la inulina sobre la viabilidad celular de fibroblastos	32
6	Área bajo la curva de los tres tipos de inulina sobre viabilidad celular en fibroblastos	33
7	Microfotografías del efecto de las tres inulinas sobre la viabilidad celular de fibroblastos	34
8	Efecto de la inulina de achicoria (SIGMA) en el cierre de herida por migración celular en queratinocitos	37
9	Efecto de la inulina de achicoria (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en queratinocitos	38
10	Efecto de la inulina de agave azul (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en queratinocitos	39
11	Efecto de la inulina de achicoria (SIGMA) en el cierre de herida por migración celular en fibroblastos	43
12	Efecto de la inulina de achicoria (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en fibroblastos	44
13	Efecto de la inulina de agave azul (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en fibroblastos	45
14	Cinética de cicatrización en modelos murino	47

15	Cicatrización en modelo murino y área bajo la curva para controles y tratamiento	48
16	Porcentaje de cierre de heridas del control e inulinas	49

ÍNDICE DE TABLAS

Número	Tabla	Página
1	Uso de polisacáridos en ensayos en cicatrización *in vitro* e *in vivo*	15
2	Porcentaje de cierre de herida por migración celular en queratinocitos tratados con inulinas a las 24 y 48 horas.	40
3	Porcentaje de cierre de herida por migración celular en fibroblastos tratados con inulinas a las 24 y 48 horas.	46

ABREVIATURAS

ADN:	Ácido desoxirribonucleico
AGCC:	Ácidos grasos de cadena corta
AGE:	Productos de glicosilación avanzada
AMR:	*Atractylodis macrocephalae*
AUC:	Área bajo la curva
CMH:	Complejo mayor de histocompatibilidad
DM:	Diabetes Mellitus
DMEM:	Medio de Eagle modificado de Dulbecco
DMSO:	Dimetilsulfóxido
FBS:	Suero fetal bovino
FOS:	Fructanos o fructooligosacáridos
HDFn:	Fibroblastos humanos dérmicos de neonato
HIF-1 a:	Factor inducible por hipoxia 1 alfa
IL:	Interleucina
LADA:	Diabetes autoinmunitaria latente de la adultez
LDH:	Lactato deshidrogenasa
MEC:	Matriz extracelular
MMP:	Metaloproteinasa de matriz extracelular
MTT:	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
Nrf2:	Factor relacionado al factor nuclear eritroide 2
OMS:	Organización Mundial de la Salud
ON:	Óxido Nítrico.
PBS:	Phosphate buffered saline
PVA:	Alcohol polivinílico
ROS:	Especies Reactivas de Oxígeno
TGF-β1:	Factor de Crecimiento Transformante Beta 1
TNF-α:	Factor de necrosis tumoral alfa
UAEM:	Universidad Autónoma del Estado Morelos
VEGF:	Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

1. ANTECEDENTES

1.1 DIABETES MELLITUS

La diabetes es una enfermedad metabólica con causas multifactoriales en la que interactúan elementos genéticos, sociodemográficos y ambientales, junto con factores de riesgo como la obesidad, la inactividad física y la alimentación poco saludable. Se caracteriza por la presencia de niveles elevados de glucosa en sangre que requiere atención médica continua y estrategias multidisciplinarias para prevenir complicaciones agudas y a largo plazo, como enfermedad cardiovascular, neuropatía, retinopatía, nefropatía, amputaciones y disminución de la esperanza de vida. Hay tres tipos principales de diabetes: tipo 1, tipo 2 y gestacional [1].

1.1.1 Epidemiología

La Diabetes Mellitus (DM) se ha convertido a lo largo de los últimos años en un problema mundial de salud pública [2]. Es la segunda causa principal de años de vida ajustados por discapacidad, lo que refleja las múltiples complicaciones y limitaciones que experimentan las personas con esta enfermedad a lo largo de su vida [3].

El último Atlas de la Diabetes del 2025 de la Federación Internacional de Diabetes (FID) informa de que el 11,1% o 1 de cada 9 de la población adulta (20-79 años) padece diabetes, equivalente a 589 millones de personas en él mundo, y más de 4 de cada 10 no saben que la padecen. Para 2050, se estima que 1 de cada 8 adultos, aproximadamente 853 millones, vivirá con diabetes, lo que supone un aumento del 46%. En América del Norte y el Caribe, 1 de cada 7 adultos padecen diabetes: 56 millones. La región tiene la segunda prevalencia más alta de diabetes (15.1%) de todas las regiones que contempla la FID, y mayor proporción de mortalidad relacionada con la diabetes (21.4%) [4].

En México en el año 2022 la prevalencia de prediabetes fue de 22.1% (equivalente a 17.6 millones de personas); la prevalencia de diabetes diagnosticada fue de 12.6% y la prevalencia de diabetes no diagnosticada fue de 5.8%, lo que resulta en una prevalencia de diabetes total de 18.3% (14.6 millones de personas) [5].

1.1.2 Fisiopatología

En la diabetes mellitus tipo 1, antes conocida como juvenil, insulinodependiente o dependiente de la insulina, el paciente no produce insulina debido a una destrucción autoinmunitaria de las células β pancreáticas, lo que puede desencadenarse ante una exposición ambiental en individuos con predisposición genética. La destrucción avanza sin provocar síntomas durante meses o años hasta que la masa de células β disminuye hasta un punto en el cual las concentraciones de insulina no son adecuadas para controlar la glucemia. La patogenia de la destrucción autoinmunitaria de las células β incluye interacciones entre genes de susceptibilidad, autoantígenos y factores ambientales que aún no se comprenden completamente. Varios virus (como coxsackie, rubéola, citomegalovirus, Epstein-Barr, SARS-CoV-2, y retrovirus) se han asociado al inicio de la enfermedad, ya sea por daño directo de las células β o mediante mecanismos inmunitarios como el mimetismo molecular. La dieta también puede influir sobre la aparición de esta enfermedad, la exposición temprana a proteínas de la leche de vaca, el alto contenido de nitratos en el agua, la deficiencia de vitamina D, y la introducción temprana o tardía del gluten y cereales se han relacionado con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, aunque los mecanismos no se comprenden por completo aún[6,7] .

La diabetes mellitus tipo 2 se caracteriza por hiperglucemia crónica causada por la combinación de la resistencia a la insulina (RI) y un defecto en la secreción de insulina. La RI impide la captación de glucosa de forma adecuada en el músculo, hígado y tejido adiposo, mientras que la alteración en la secreción de insulina agrava la hiperglucemia. Algunos factores como la obesidad, la hiperlipidemia, el estrés oxidativo, la inflamación crónica, la disfunción mitocondrial y la disbiosis intestinal contribuyen al daño celular y a la progresión de la patología [8]. La resistencia hepática a la insulina inhibe la supresión de la producción de glucosa hepática, y la resistencia periférica a la insulina afecta la absorción periférica de glucosa. Los factores exactos que conducen al desarrollo de la resistencia a la insulina y la disfunción final de la célula β pancreática no se han aclarado plenamente. Además de las determinantes genéticas, la evidencia actual se ha enfocado en cuatro

grandes vías o mecanismos fisiopatológicos: a) resistencia a la insulina e inflamación; b) glucolipotoxicidad y disfunción de la célula β; c) disfunción mitocondrial; d) plasticidad celular y memoria metabólica [9].

1.1.3 Cuadro clínico

Los síntomas más frecuentes de la diabetes mellitus son los de la hiperglucemia. La hiperglucemia leve de la diabetes mellitus temprana es a menudo asintomática [7]. Los síntomas de la diabetes tipo 1 son graves y generalmente suceden rápidamente, en pocos días o semanas. Los síntomas pueden incluir polidipsia (aumento de la sed), poliuria (aumento de la micción), polifagia (aumento del hambre), visión borrosa, fatiga y pérdida de peso inexplicable. A veces los primeros síntomas de la diabetes tipo 1 son signos de un problema médico potencialmente mortal o bien una complicación de la propia enfermedad llamada Cetoacidosis diabética[10].

Los síntomas de la diabetes tipo 2 a menudo aparecen lentamente, en el transcurso de varios años, y pueden ser tan leves que ni siquiera se notan. Muchas personas no tienen síntomas. Algunas personas no saben que tienen la enfermedad hasta que tienen complicaciones relacionados con la diabetes, como visión borrosa, enfermedades del corazón u otras[11].

1.1.4 Diagnóstico

Además del cuadro clínico para confirmar el diagnóstico, se deben hacer uno o más de los siguientes exámenes.

Exámenes de sangre:

-Glucemia en ayunas. Nivel de glucosa en ayunas es de 126 mg/dl (7.0 mmol/L) o superior en dos exámenes diferentes.

-Examen de hemoglobina A1C (A1C). Lo normal es menos de 5.7%; prediabetes es entre 5.7% y 6.4%; y diabetes es 6.5% o más alto.

-Prueba de tolerancia a la glucosa oral. Nivel de glucosa es de 200 mg/dl (11.1 mmol/L) o superior luego de 2 horas de tomar una bebida azucarada especial de 75 gramos [12].

1.1.5 Complicaciones

Las complicaciones de la DM se dividen en agudas y crónicas. Dentro de las agudas se encuentran la Cetoacidosis Diabética y el Estado Hiperglucémico Hiperosmolar[13]. Respecto a las complicaciones crónicas en términos generales pueden clasificarse en microvasculares (cuando el daño vascular afecta los vasos sanguíneos pequeños) y macrovasculares (cuando se dañan las arterias). La retinopatía diabética, la nefropatía diabética y la neuropatía diabética son las principales complicaciones microvasculares, mientras que la cardiopatía coronaria, la enfermedad arterial periférica y los accidentes cerebrovasculares son las principales complicaciones macrovasculares[12]. La neuropatía diabética y la enfermedad arterial periférica contribuyen mayoritariamente a la formación del llamado Pie diabético otra de las complicaciones más frecuentes en esta enfermedad[14.]

1.1.6 Pie diabético

El pie diabético presenta una alteración anatómica o funcional, determinada por anomalías neurológicas y/o diversos grados de enfermedad vascular periférica, que le confiere una mayor susceptibilidad a presentar infección, ulceración y/o destrucción de tejidos profundos[15]. Es un importante problema médico, social y económico en todo el mundo, sobre todo en países de bajos recursos y se considera una emergencia sanitaria[16].

Las úlceras del pie diabético son el principal factor de riesgo para las amputaciones no traumáticas en personas con diabetes. Se estima que aproximadamente el 3-4% de los diabéticos presenta actualmente alguna úlcera [15], se calcula que cerca de un 25% de estas lesiones no lograrán cicatrizar durante el curso de la enfermedad y requerirán una amputación. A su vez, suelen presentar episodios de infección que requerirán hospitalizaciones para su manejo. El proceso infeccioso aumenta la necesidad de hospitalización 50 veces e incluso eleva el riesgo de amputación 155 veces frente a pacientes con úlceras no infectadas[17].

Las úlceras pueden ser de tipo neuropático, isquémico o neuroisquémico. Hasta un 85% de las úlceras diabéticas son de tipo neuropático, mientras que entre el 10 y el

60% pueden tener componente isquémico. Las úlceras neuropáticas se manifiestan en sitios de presión continua y las plantares son las más frecuentes, así como las que mayor recurrencia tienen[15].

Los objetivos del tratamiento del pie diabético son lograr la cicatrización de los tejidos mientras se mantiene una función y una carga de peso adecuadas para la deambulación. El tratamiento antibiótico de la infección invasiva, junto con el desbridamiento o la amputación del tejido y la descarga de la presión del pie hasta que se logre la curación, son los principios esenciales del manejo. Se ha demostrado que las terapias complementarias específicas ayudan en la cicatrización de úlceras/heridas, como ungüentos antimicrobianos tópicos (sulfadiazina de plata o murpicina), factores de crecimiento de heridas, apósitos biológicos, terapia de heridas con presión negativa y tratamientos con oxígeno hiperbárico[18].

1.2 CICATRIZACIÓN Y ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS

La piel es una parte fundamental del cuerpo humano, el órgano más grande y la primera barrera de defensa contra el medio ambiente.[19] Es un órgano complejo compuesto por la epidermis, la dermis y la hipodermis o tejido celular subcutáneo. Desempeña diversas funciones esenciales, como la protección de barrera contra patógenos, radiación ultravioleta y lesiones físicas; la regulación de la temperatura corporal mediante la producción de sudor y la dilatación o constricción de los vasos sanguíneos; la percepción sensorial, y la defensa inmunitaria. [20]

Una herida se define como la pérdida de la integridad y funciones normales de la piel [21] que puede ser causada por lesiones, enfermedades, envejecimiento y estresores ambientales.[22]

Las heridas se pueden clasificar como agudas, que tardan entre 7 y 10 días en sanar, o crónicas, que pueden no sanar en este lapso de tiempo debido a un proceso de curación lento y desordenado. El hecho de que una herida se vuelva crónica se ha asociado con muchos factores, que incluyen enfermedad subyacente, infección, inflamación prolongada, consumo de medicamentos y estrés oxidativo relacionado con el envejecimiento. [21]

1.2.1 Fisiología de la cicatrización de heridas

El proceso de cicatrización de heridas constituye una respuesta fundamental de restauración de la integridad tisular ante una lesión.[23] El éxito de este esfuerzo depende de una maquinaria fisiológica compleja que implica interacciones entre una variedad de células, mediadores bioquímicos y moléculas de la matriz extracelular.[24]

Se consideran cuatro fases en el proceso de cicatrización (Figura 1):

-Fase de homeostasia: se activan las vías de coagulación extrínseca e intrínseca, las cuales intervienen en la detención de la pérdida de sangre. La agregación plaquetaria se produce tras la vasoconstricción arterial hacia el endotelio dañado. La liberación de adenosín 5'-difosfato (ADP) provoca la aglomeración de las plaquetas e inicia el proceso de trombosis. Esta vasoconstricción es un proceso transitorio, seguido rápidamente por vasodilatación, lo que permite la afluencia de leucocitos y más plaquetas.[25]

-Fase inflamatoria: Posterior a la hemostasia, se genera una vasodilatación secundaria a la acción de la cascada de la coagulación y del complemento. En la cascada de la coagulación se genera la bradicinina por activación del factor XII. En cuanto a la cascada del complemento, se generan las anafilotoxinas C3a y C5a, las cuales tienen acción vasodilatadora y estimulan la liberación de histamina y leucotrienos C4 y D4 de los mastocitos. Además, el endotelio rompe las uniones intercelulares, facilitando el paso de células inflamatorias. El flujo inicial de células en las primeras 24 horas (después de que se ocasionara la herida) es de neutrófilos, los cuales tienen la función de desbridar bacterias y restos celulares mediante radicales de oxígeno y óxido nítrico; igualmente, se ocupan de secretar citoquinas para la atracción y activación de monocitos y linfocitos. Dos o tres días después de la lesión, las células inflamatorias cambian en predominio de monocitos, estos se diferencian de los macrófagos, que, en conjunto con los macrófagos tisulares, van a dirigir el proceso de reparación; además, van a producir factores de crecimiento [más de 30] que van a atraer y a activar células endoteliales, fibroblastos y queratinocitos. La depleción de monocitos y macrófagos produce deficiencia en el proceso de cicatrización, ya que hay un desbridamiento pobre, un retraso en la

proliferación de fibroblastos y una angiogénesis inadecuada. Exponiendo el rol dominante del macrófago en la cicatrización. Los linfocitos T invaden la herida aproximadamente en la primera semana y son un puente en la transición de las fases. No se tiene un efecto claro, pero ante la depleción, disminuyen la fuerza y el contenido de colágeno. Mientras que la supresión selectiva de CD 8+ incrementa la cicatrización de la herida, la supresión de CD4+ no tiene ningún efecto.[26,27]

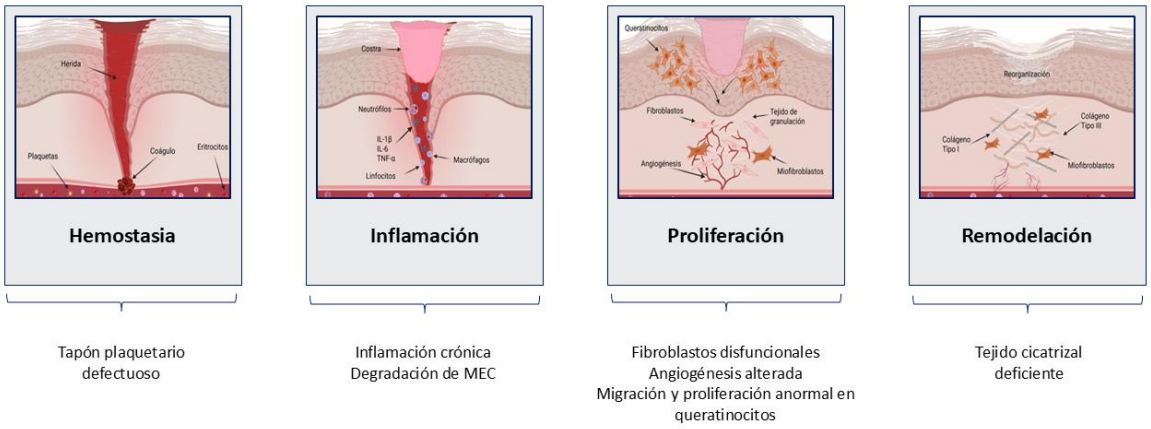


Figura 1. Fases de la cicatrización y principales alteraciones

-Fase proliferativa: se desarrolla entre los días 4 y 12, implica la degradación de la matriz provisional de plaquetas y fibrina mediante proteasas como serina, cisteína y metaloproteinasas de la matriz (MMP). Estas proteasas facilitan la migración celular, mientras que el Activador Tisular del Plasminógeno y la uroquinasa disuelven el coágulo. Los factores de crecimiento liberados por macrófagos, mastocitos y tejidos adyacentes activan a los fibroblastos, que proliferan y sintetizan la matriz provisional de fibronectina y ácido hialurónico. Los fibroblastos también comienzan a depositar colágeno tipo III de manera desorganizada, un proceso complejo regulado tanto intracelular como extracelularmente. El tejido de granulación, compuesto por vasos, macrófagos y fibroblastos en una matriz de fibronectina, ácido hialurónico y colágeno, se caracteriza por una intensa neoangiogénesis, estimulada por hipoxia, macrófagos, plaquetas y productos de fibroblastos. La hipoxia también induce la liberación del factor HIF-1, iniciando la

angiogénesis y adaptaciones metabólicas. La contracción de la herida, que reduce su tamaño y acelera la cicatrización, es mediada por miofibroblastos, derivados de fibroblastos activados.[26] Este proceso es crucial en la cicatrización por segunda intención y difiere de una contractura, que es una complicación que limita la movilidad y funcionalidad. La epitelización, que restablece la barrera externa, comienza con la migración de queratinocitos desde los bordes de la herida. Estos cambian de forma, se dividen y migran para cubrir el defecto en 18-24 horas. Una vez cubierta la herida, los queratinocitos y fibroblastos secretan laminina y colágeno tipo IV para formar la membrana basal. La reepitelización se completa en 48 horas en heridas con bordes aproximados, pero puede tardar más en otros casos, aumentando el riesgo de cicatrices hipertróficas si la inflamación se prolonga. En heridas de espesor total, la epitelización se produce a una velocidad de 1-2 mm por día, alcanzando 1 cm por mes en extremidades inferiores.[24,27]

-Fase de Remodelación: El soporte de las células lo da la MEC, la cual es dinámica y tiene un balance entre la síntesis, el depósito y la degradación durante el proceso de cicatrización. Lisil-oxidasa, es la principal enzima que forma el entrelazado de colágeno, dándole fuerza tensil. La MMP es la principal enzima que se dedica al balance del depósito y la degradación del colágeno. La cicatriz es el resultado final de la reparación de tejido, no posee apéndices dérmicos, sino que posee un patrón de colágeno con fibras densamente empaquetadas, distinto a la piel sana. El depósito de la matriz en la herida sigue un patrón: primero, la matriz temprana es de fibronectina y colágeno tipo III; luego, de glicosaminoglicanos y proteoglicanos, y, por último, el colágeno tipo I forma la matriz final. La cantidad llega a una meseta en unas dos o tres semanas; sin embargo, la síntesis y degradación del mismo continúa ahora sin cambios en la cantidad, sino en el orden y el tipo. Por el reordenamiento de las fibras y el cambio del colágeno tipo III por tipo I, la fuerza tensil continúa aumentando, lo que ayuda a regresar a una relación 4:1, como en la piel normal. Otro componente de la MEC son los proteoglicanos [principalmente ácido hialurónico], los cuales le brindan una gran cantidad de agua a la cicatriz inmadura, que durante la remodelación regresa a su dosis normal. La remodelación para formar una cicatriz madura, avascular y acelular, ocurre desde meses hasta 1-

2 años desde la lesión. Al inicio, la cicatriz es rojiza debido a su gran red de capilares, los cuales van a retroceder hasta quedar pocos, y, por ende, la coloración rojiza va disminuyendo hasta tornarse hipopigmentada en la cicatriz madura.[24,28]

1.2.2 Alteraciones del proceso de cicatrización en la Diabetes mellitus (DM)

En la DM, la cicatrización deficiente de las heridas es un problema común y grave, ya que da lugar a úlceras en los pies, venosas y por presión. Por tanto, una herida diabética tiene un mayor riesgo de complicaciones graves, como infecciones y amputaciones. La cicatrización de heridas en la DM, se dificulta debido a que la condición de hiperglucemia propicia el desarrollo de trastornos secundarios como complicaciones macro y microvasculares que influyen en el proceso. Específicamente, los cambios vasculares inciden en la reducción del suministro de sangre hacia la zona lesionada que influye en la llegada de nutrientes hacia esa zona y esto tiene un gran impacto negativo en la recuperación del tejido e incide directamente en la velocidad de reparación y en la capacidad de prevenir complicaciones como infecciones en la herida. La diabetes es un factor de riesgo para alteraciones en el proceso de cicatrización porque se asocia con vasculopatía, neuropatía e inmunopatía.[29-30]

La glucotoxicidad afecta a varias células, incluidas las implicadas en la reparación de tejidos, generando un entorno tóxico que inhibe la división celular, altera la síntesis de óxido nítrico, y favorece la inflamación crónica. Este entorno proinflamatorio contribuye a la resistencia a la insulina, creando un ciclo vicioso de daño continuo y permanente.[31]

En la DM las heridas crónicas se comportan como órganos proinflamatorios en un entorno metabólicamente desregulado, sé presenta una respuesta inflamatoria prolongada, caracterizada por una infiltración excesiva y sostenida de leucocitos, especialmente neutrófilos y macrófagos.[32] Esta inflamación desordenada y extendida en el tiempo interfiere con la cicatrización al perpetuar un estado de degradación de la matriz extracelular (MEC) y al inhibir la acción de la insulina, lo que agrava la resistencia a la misma. La desregulación en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-

α) y la interleucina 6 (IL-6) también juega un papel crucial, generando un ciclo de daño y catabolismo continuo. El desequilibrio entre la síntesis y la degradación de la matriz se ve exacerbado por la actividad elevada de las metaloproteinasas de la matriz (MMP), lo que contribuye a la pobre cicatrización y a la degradación de factores de crecimiento. Además, la presencia de ROS y otras especies reactivas en el microambiente de la herida amplifica el estado proinflamatorio y prodegradativo, impidiendo la curación. La inflamación crónica y descontrolada también se asocia con altos niveles de apoptosis en las células productoras de tejido de granulación, como los fibroblastos, lo que resulta en una cicatrización deficiente.[29,32]

En el tejido de granulación de heridas en la DM los fibroblastos son morfológicamente anormales, presentando un gran retículo endoplasmático dilatado, falta de estructuras microtubulares y múltiples cuerpos lamelares. Estas alteraciones, posiblemente causadas por la hiperglucemia crónica, resultan en una proliferación celular reducida y en una menor respuesta a factores de crecimiento. Además, en dichos fibroblastos existe una mayor expresión de prohibitina, una proteína prosenescente, y una menor migración y respuesta a condiciones hipóxicas en comparación con fibroblastos de individuos sanos. Además, los fibroblastos de pacientes diabéticos muestran una regulación deficiente del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), crucial para la angiogénesis, en condiciones de estrés hipóxico. El HIF-1ª, un factor estabilizador bajo condiciones hipóxicas, se encuentra reducido en heridas diabéticas. La disminución del reclutamiento y diferenciación de fibrocitos en la diabetes también afecta negativamente la formación de tejido de granulación.[29,31] En el caso de la reepitelización, los queratinocitos en heridas diabéticas presentan una proliferación anormal y una incapacidad para migrar. La insulina juega un papel importante en la proliferación y migración de queratinocitos, pero su acción se ve afectada negativamente por la hiperglucemia. Productos finales de glicación avanzada y mayor concentración de MMP (metaloproteinasas de matriz) tienen efecto directo sobre los queratinocitos, reduciendo su proliferación y aumentando su susceptibilidad a la apoptosis, lo que contribuye al fracaso de la reepitelización.[31,33]

1.2.3 Tratamiento convencional de heridas

Según la OMS actualmente, hay varios tratamientos para lesiones en la piel, que comprenden procedimientos quirúrgicos, terapias no quirúrgicas y agentes farmacológicos, con costos de $ 12.000 millones anuales y que alcanzarán $ 35.000 millones en 2023 [34]; se sabe de la existencia de una gama de aproximadamente 2.000 items que se destinan al tratamiento de heridas, desde las coberturas más simples hasta los más complejos tipos de curativos, que interfieren de forma activa en las diversas fases del proceso de cicatrización, de los varios tipos de heridas.[35]

La utilización de productos tópicos para ayudar al proceso de reparación del tejido tiene gran valor, ya que es por medio de la terapia tópica que las condiciones ideales para la cicatrización puedan ser alcanzadas.[35] Varios autores agrupan los tratamientos de heridas en diferentes grupos, pero atendiendo a la función de los compuestos tópicos pudiéramos encontrar los queratolíticos y queratoplásticos, que promueven la renovación celular y la regeneración del epitelio, contribuyendo a una mejor reparación tisular. Otros compuestos como los revulsivos, oclusivos, humectantes, emolientes y reparadores, actúan mejorando el entorno local de la herida: aumentan la circulación, retienen agua, y reparan estructuras dérmicas dañadas. También se emplean antisépticos, astringentes y antimicrobianos para prevenir o controlar infecciones y exudado.[36] Estos agentes se administran comúnmente en formulaciones como cremas, geles, pomadas o emulsiones, cuya eficacia depende del tipo de herida, el estado de la piel y las características fisicoquímicas del principio activo. En heridas húmedas se prefieren cremas y geles, mientras que en heridas secas son más útiles las pomadas por su efecto protector y oclusivo.[37]

Cuando la regeneración tisular es deficiente se recurre al desbridamiento quirúrgico para eliminar tejido necrótico y preparar el lecho de la herida, optimizando el proceso de cicatrización. En heridas graves, como quemaduras o lesiones crónicas, se utilizan injertos de piel (autoinjerto, aloinjertos y/o xenoinjertos) por su alta eficacia en restaurar la función y estructura del tejido sin riesgo inmunológico.[37]

También existen otras terapias complementarias y avanzadas fundamentalmente para el manejo de heridas crónicas pero que presentan altos costos y difícil acceso, como, la oxigenoterapia hiperbárica que mejora la oxigenación tisular al administrar oxígeno puro a alta presión, favoreciendo la cicatrización, especialmente en casos de pie diabético. La terapia de presión negativa, promoviendo el flujo sanguíneo y manteniendo un ambiente húmedo, lo que acelera la reparación tisular; y en el caso de la terapia ultrasónica y la electromagnética, su efectividad en la cicatrización aún no ha sido científicamente comprobada.[38]

Sin embargo, muchos de estos tratamiento presentan ciertas limitaciones, esto debido a las reacciones adversas que los mismos presentan. El uso de antimicrobianos y antisépticos se ha asociado con resistencia bacteriana y desarrollo de eccema alérgico de contacto. Incluso se ha observado necrosis de la herida con el uso de mupirocina, así como también se ha sostenido que la povidona yodada podría ser tóxica *in vitro* para los fibroblastos y queratinocitos.[39] Los tratamientos absorbentes pueden deshidratar la herida si absorben demasiado, lo que puede dañar el lecho de la herida y retrasar la curación; o bien si la absorción es muy lenta pueden provocar maceración de la piel perilesional.[40] El uso de apósitos a base de la plata y las biguanidas se han asociado con citotoxicidad y reacciones de sensibilidad; en caso de los apósitos diseñados a base de nanopartículas metálicas se señala el riesgo de acumulación sistémica por dispersión y acumulación en distintos órganos, lo cual podría conllevar a toxicidad. De igual modo el uso incorrecto y prolongado de apósitos con antibióticos de amplio espectro puede favorecer la aparición de bacterias multirresistentes.[41] En el estudio de Alexander-Sinclair y colaboradores del 2025 donde realizaron un análisis *in vitro* de la biocompatibilidad de 11 apósitos modernos de diversos tipos, utilizados en el tratamiento de heridas agudas y crónicas, se demostrado que solo 5 de ellos no afectan negativamente el estado morfofuncional de los fibroblastos dérmicos humanos y, por lo tanto, presentan una alta biocompatibilidad. La heterogeneidad de estos apósitos y la falta de protocolos estandarizados pueden limitar su utilidad clínica o incluso hacerlos ineficaces.[42]

1.2.4 Uso de productos naturales en la cicatrización

Los compuestos naturales de extractos de plantas pueden proporcionar una solución para mejorar el proceso de curación de heridas al reducir la formación de cicatrices.[43] Estos compuestos naturales se pueden usar directamente como tratamientos o como portadores de fármacos para la administración de otras terapias.[44] Los compuestos bioactivos antimicrobianos, antioxidantes y cicatrizantes derivados de plantas estimulan la coagulación sanguínea, combaten las infecciones y aceleran la cicatrización de heridas. Existen numerosos informes en la literatura sobre compuestos naturales con el potencial de promover la cicatrización de heridas que podrían usarse como un tratamiento eficaz en las diversas fases del proceso de cicatrización de heridas. Estos se consideran seguros, en comparación con algunas moléculas sintéticas, son más tolerados y pueden ser mucho más baratos que las terapias convencionales.[43-44]

Las propiedades medicinales y beneficiosa de los compuestos naturales pueden ser aportadas por los componentes fitoquímicos bioactivos de las diversas familias químicas, como alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas, compuestos fenólicos y polisacáridos. Cada agente bioactivo puede tener una función específica en las propiedades de cicatrización de heridas. Estos fitoquímicos pueden modular una o más fases del proceso de cicatrización de heridas. Además, son fácilmente absorbidos por las capas superficiales de la piel. Debido a estas propiedades, los productos naturales y sus fitoquímicos tienen papeles importantes en la cicatrización de heridas y se utilizan en el diseño de nuevos compuestos sintéticos para este propósito.[44-45]

Las saponinas pueden mejorar la síntesis de procolágeno, promueven la regeneración vascular y acortan el tiempo de cicatrización de heridas. Los taninos y flavonoides se encuentran en una amplia gama en la naturaleza, como alimentos, verduras y frutas, y sus inhibidores compuestos pueden matar varias cepas bacterianas y atenuar el proceso inflamatorio, lo que es beneficioso para la cicatrización de heridas, por tanto, tienen actividades antisépticas y antiinflamatorias.[46] Los polifenoles, ampliamente presentes en la dieta humana, pueden mejorar la cicatrización de heridas debido a sus factores beneficiosos como

las actividades antioxidantes, inmunomoduladoras y bacteriostáticas. Las antraquinonas, que tienen efectos antibacterianos hemostáticos, y sus componentes beneficiosos contribuirán a la fase hemostática de la cicatrización de heridas y a la fase inflamatoria.[45]

1.2.5 Polisacáridos como agentes terapéuticos en cicatrización

Los polisacáridos son componentes esenciales en diversas estructuras biológicas, tales como las plantas superiores, las membranas celulares animales y las paredes celulares de microorganismos.[47] Considerando sus propiedades intrínsecas, se han desarrollado andamios a base de polisacáridos para la cicatrización de heridas, considerados como una herramienta útil en aplicaciones de ingeniería tisular y cicatrización avanzada, especialmente cuando se busca acelerar el proceso de curación sin causar reacciones adversas.[47,48]

Debido a la biocompatibilidad, biodegradación y características no tóxicas, en las últimas décadas se han desarrollado varias formulaciones usando derivados de biomasa, como el quitosano, el ácido hialurónico, el alginato, el dextrano y la celulosa.[49]

Alrededor de 164 productos derivados de polisacáridos se encuentran actualmente en ensayos clínicos, con un 29,7 % destinado a promover la cicatrización de heridas [50] y hasta la fecha, la FDA ha aprobado más de 20 productos de hidrogel basados en polisacáridos para tratar heridas.[51] Por ejemplo, XStat® preparado a partir de esponjas de celulosa recubiertas de quitosano se ha utilizado para proporcionar efectos hemostáticos inmediatos[52]; Hyalomatrix® basado en HA se ha utilizado para tratar heridas por presión, úlceras vasculares crónicas y úlceras diabéticas a través de la regeneración capilar y el soporte celular [53]; y la película Kaltostat® derivada de alginato se ha desarrollado para tratar heridas sangrantes menores.[54]

1.2.6 Antecedentes *in vitro* e *in vivo*

Los estudios *in vitro* son una etapa crucial para evaluar las propiedades cicatrizantes de nuevos agentes antes de pasar a ensayos *in vivo*. Los fibroblastos contribuyen a la formación de tejido conectivo durante la fase de proliferación, mientras que los queratinocitos participan en la reepitelización, restaurando la barrera cutánea.

Evaluar la capacidad de un compuesto para promover la proliferación, migración y diferenciación de estas células proporciona información valiosa sobre el potencial terapéutico del mismo. Los queratinocitos y fibroblastos juegan un papel central en el proceso de cicatrización de heridas, lo que los convierte en modelos ideales para estos.[55,56] Las evaluaciones y resultados obtenidos de cicatrización de heridas y regeneración de tejidos *in vitro* de los productos naturales pueden variar respecto a las evaluaciones *in vivo* debido a la interacción con factores como el sistema inmunológico, la microbiota y el flujo sanguíneo que pueden modificar significativamente estos efectos.

Tabla 1. Uso de polisacáridos en ensayos en cicatrización *in vitro e in vivo*

Fuente	Componentes principales	Modelo y tratamiento	Resultados	Referencias
Quitina (exoesqueletos de crustáceos)	Quitosano carboximetilado	Ratas Wistar con heridas infectadas por *S. aureus* y *E. coli;* Hidrogel inyectable con quitosano carboximetilado, quercetina y nanopartículas de polidopamina. Aplicación tópica e irradiación con láser NIR (808 nm)	Eliminación bacteriana: *S. aureus* 99.52%, *E. coli* 99.39%; aceleración de cicatrización: 97% de cierre de herida en 10 días; aumento de angiogénesis y reducción de especies reactivas de oxígeno	57
Extracto de polisacárido de *Trametes versicolor*	Polisacáridos, terpenoides, glucanos, compuestos fenólicos, estatinas, lectinas, pigmentos de melanina, quitina y quitosano.	Fibroblastos de línea celular L929 / 1250, 625, 312,5,156,25 µg/ml 6 ratones BALB/c machos blancos, con un peso entre 18 y 20 g y 6 semanas de edad. Se administró 0,01 g de extracto de *T. versicolor*	Estimuló la proliferación de células fibroblásticas y el ciclo celular, y reguló la inflamación a través del aumento de la expresión de IL-1β, TGF-β1 y FGF2, con su impacto positivo en la cicatrización y la regeneración tisular	58
Quitina (crustáceos) y algas pardas *Laminaria*	Quitosano y alginato sódico	Ratas Wistar con heridas de espesor completo; gel nanocompuesto de quitosano- alginato cargado con berberina (concentración final: 0.5% berberina). Aplicación tópica diaria durante 14 días	Cierre de herida significativamente más rápido; aumento de colágeno total (medido por tinción Masson); reducción del infiltrado inflamatorio; mejora en organización del epitelio y tejido conectivo	59

Celulosa (CMC, grado de sustitución 0.9, 395 kDa)	Carboximetilcelulosa	Ratas macho Sprague Dawley diabéticas inducida por estreptozotocina (60 mg/kg), 4 heridas dorsales de 8 mm por rata,3D Scaffold de CMC (15% p/v) con ácido cítrico (20% p/p), aplicado una sola vez; y Scaffold CMC + PRP (plasma rico en plaquetas autólogo).	Aceleró significativamente el cierre de heridas en ratas diabéticas, promoviendo una mayor reepitelización, angiogénesis, migración y proliferación celular, así como un aumento en la expresión de VEGF y TGF-β1, sin signos de infección o rechazo.	60
Extracto de polisacárido *de Nostoc commune*	Polisacáridos (221,69 mg/g), sulfatos (156,11 mg/g), flavonoides (2,93 mg/g) y compuestos fenólicos (0,37 mg/g).	Línea celular de fibroblastos de piel humana (CCD-966SK) 0,59 a 1,08 ng/mL Línea celular de macrófagos murinos RAW 264.7 desafiada con LPS, 0625-1,0 mg/mL	Aumentó significativamente la producción de colágeno tipo I Redujo significativamente los niveles de IL-6	61
Rizomas de *Curcuma zedoaria*	Polisacárido homogéneo (ZWP)	Ratas Sprague-Dawley, diabéticas inducidas con estreptozotocina, ZWP aplicado en hidrogel de seda/quitosano, exosomas derivados de plasma rico en plaquetas (PRP-Exos) en el mismo tipo de hidrogel,ZWP + PRP-Exos, aplicados juntos en hidrogel.	Todos los tratamientos mejoraron la cicatrización Contracción acelerada de la herida Mayor reepitelización ↑ Depósito de colágeno ↑ Angiogénesis Mejor efecto con el tratamiento combinado que individualmente	62
Astragalus membranaceus	Polisacárido APS2-1	Fibroblastos de piel humana (CCC-HSF-1; HSF), 1, 5 y 25 mg/l Ratones machos C57BL/6, 0,5 g de ungüento (APS2-1: Vaselina/SDS/H_2O = 2:60:2:65)	Promovió la reepitelización, revascularización y secreción de citocinas de TGF-β1, bFGF y EGF Curación de heridas al promover la reepitelización y la revascularización.	63
Extractos metanólicos de ocho especies de *Aloe : A. vera (L.) Burm. f., A. arborescens Mill., A.eruk , A. Berger , A. grandidentata Salm- Dyck, A. perfoliata L., A. brevifolia Mill., A. saponaria Haw. y A.ferox Mill*	Compuestos fenólicos, flavonoides y glucósido aloenina y los glucomananos	Ratas macho adultas de la cepa Sprague-Dawley (modelo animal de úlcera del pie diabético tipo II inducida químicamente), única dosis de 250 mg/kg de peso corporal.	Disminución del espesor del edema por la actividad antiinflamatoria, aceleraron la cicatrización de heridas con una disminución del área de la herida del 86,2% para el día 10 del experimento.	64

1.3 INULINA

Los fructanos son polímeros de fructosa que están compuestos por unidades de fructosa unidas por enlaces β2-1 y/o β2-6 a una unidad básica de glucosa. Se agrupan en tres familias principales: las inulinas, los levanos y los graminanos.[65] Se encuentran en muchas plantas superiores como polisacáridos de almacenamiento, se almacenan con frecuencia en las hojas y otros órganos que actúan como reserva de carbohidratos, presentes por tanto en muchos alimentos y formando parte de la dieta diaria habitual. Desde la antigüedad, las plantas enriquecidas con fructanos se han utilizado como alimento, pienso y en la medicina popular. Los fructanos no solo se consideran alimentos o ingredientes alimentarios, sino que también ofrecen muchos beneficios para la salud humana, ya que tienen numerosas actividades biológicas, incluidas actividades antioxidantes, inmunomoduladores, antiinflamatorias, anticancerígenas, anti hiperglucémicas y prebióticas.[66,67]

La inulina es un carbohidrato no digerible que también se encuentra de forma natural en más de 30 000 especies vegetales, y se utiliza ampliamente como ingrediente en alimentos funcionales. Algunas de estas fuentes naturales incluyen la alcachofa, los espárragos, la cebolla y el puerro, los plátanos, el agave, el ñame, la raíz de achicoria o el ajo, entre otros. Es un sustituto del azúcar o la grasa con un valor calórico muy bajo, actúa de forma similar a las fibras dietéticas y contribuye a mejorar las condiciones del sistema gastrointestinal.[68] La inulina es una fibra soluble, heterogénea, compuesta de unidades de fructosa, unidas por enlaces β (2–1) fructosil-fructosa y una molécula de glucosa se encuentra unida al final de cada cadena de fructosas con enlace α (1–2), como una sacarosa. La longitud de sus cadenas se encuentra de entre 2 a 100 unidades monoméricas de carbohidratos. La característica principal de la estructura los fructanos e inulina es su enlace β (2–1), el cual no puede ser degradado por las enzimas de los mamíferos como cualquier carbohidrato y es responsable del valor calórico reducido y efectos de una fibra dietética.[69,70] La inulina de achicoria es un fructano lineal, formado por unidades de fructosa unidas por enlaces β (2-1) y con poca variabilidad en su tamaño, por lo que presenta un grado de polimerización moderado y uniforme, generalmente de entre 2 y hasta 60 unidades. En cambio, la inulina del agave azul presenta una

estructura más ramificadas, con enlaces β (2- 1) y β (2- 6), lo que genera una estructura más compleja y heterogénea, con un grado de polimerización que puede llegar hasta 30 unidades.[71]

La inulina es una fibra dietética con múltiples beneficios para la salud. Ayuda a reducir los niveles de lípidos y glucosa en sangre, favorece el tránsito intestinal y actúa como prebiótico al estimular el crecimiento de bacterias beneficiosas en el colon. Además, mejora la absorción de minerales como calcio y magnesio, contribuyendo a la salud ósea y a la prevención de la osteoporosis. También se ha estudiado su potencial en la prevención del cáncer de colon y mama, así como sus efectos positivos en la salud gastrointestinal e inmune. Sus metabolitos, los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), pueden reducir la inflamación, mejorar la función inmunológica y promover un entorno más tolerante al modular células como las ILC2 y Th2, relacionadas con respuestas alérgicas. Aumenta las subpoblaciones de células inmunitarias, como las células B y T reguladoras, fortaleciendo la barrera intestinal y suprimiendo respuestas inflamatorias alérgicas.[72,73]

1.3.1. Efecto de la inulina en la cicatrización

Hasta el momento prácticamente no se han documentado investigaciones que aborden el efecto de la inulina sobre la piel, ni sobre la cicatrización. Recientemente en el estudio realizado por Tang X. *et al* [74] tuvieron como objetivo aislar un polisacárido homogéneo de la *Atractylodis macrocephalae* (AMR), analizar sus características estructurales y verificar su eficacia y mecanismo *in vivo* e *in vitro*, en base a la creación de nuevas alternativas para el tratamiento de la psoriasis. Se extrajo un AMP marcado con fructano de tipo inulina del AMR con un peso molecular de 5,84 kDa y comprende fructosa, glucosa y arabinosa en una proporción molar de 93:5:2.En dicho estudio se demostró la capacidad del AMP para inhibir la hiperproliferación y la sobreexpresión de los genes TNF-α, IL-6 e IL-23 en células de queratinocitos inmortales humanos (HaCaT) estimuladas por lipopolisacárido, estos resultados indican que el AMP puede dirigirse directamente a los queratinocitos para suprimir la proliferación excesiva y contribuir a las respuestas antiinflamatorias. Mientras que en los modelos animales utilizados verificaron que

el AMP puede mejorar las lesiones cutáneas similares a las psoriasis inducidas por imiquimod y regular a la baja la expresión de los genes Il-17a, Il-23, Il-22, Il-6, Il-12 y Tnf-α. Yoshida M. et al analiza cómo una dieta rica en inulina, afecta a un modelo murino de dermatitis similar a la psoriasis inducida por imiquimod en ratones BALB/c. Obteniendo como resultado que la dieta rica en inulina redujo el grosor de la piel, la inflamación y la proliferación de células epidérmicas, lo cual se asoció con una menor severidad de la dermatitis. El tratamiento con inulina disminuyó los niveles de citocinas proinflamatorias como IL-17A, IL-17F, IL-22, TNF-α e IL-1β. Además, aumentó los niveles de TGF-β1, una molécula antiinflamatoria; además, favoreció un aumento de las bacterias del género *Bacteroides* y los niveles de ácidos grasos de cadena corta, como el propionato, que también contribuyeron a reducir la inflamación. [75] Parin, FN. et al (2023) desarrollaron una película sostenible basada en alcohol polivinílico (PVA) e inulina, reforzada con una emulsión Pickering de aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia*, con el objetivo de evaluar su potencial en la cicatrización de heridas. La inulina utilizada provino de *Helianthus tuberosus* (alcachofa de Jerusalén), las formulaciones fueron aplicadas sobre fibroblastos murinos de la línea celular NIH3T3, mostrando nula citotoxicidad. Las películas exhibieron propiedades antioxidantes hasta de un 70% de inhibición de radicales DPPH, actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y buena adhesividad y flexibilidad mecánica. Los autores concluyen que la combinación de inulina con aceites esenciales y matrices poliméricas como el PVA puede resultar en un material funcional y seguro para aplicaciones en curación de heridas, al promover un microambiente antioxidante, prevenir infecciones y favorecer la regeneración tisular. [76]

2. JUSTIFICACIÓN

La DM se ha convertido a lo largo de los últimos años en un problema mundial de salud pública [2], es una enfermedad metabólica con alta prevalencia mundial y, en particular, en países como México, donde afecta a más del 18% de la población.[5] Las complicaciones derivadas de la cicatrización deficiente en el pie diabético y las úlceras crónicas en estos pacientes, representan un desafío médico de gran envergadura. El presente trabajo surge de la necesidad de abordar esta problemática relevante en el campo de la salud que es la cicatrización deficiente en la DM.

En este contexto se ha considerado oportuno el desarrollo de compuestos de origen natural para el tratamiento de la cicatrización, frente a los compuestos existentes de origen sintético que presentan altos costos y biocompatibilidad limitada. La inulina es un fructano que ha demostrado tener efectos beneficiosos sobre la salud, incluyendo propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras, y de andamio celular, relevantes para demostrar su aplicabilidad para favorecer la cicatrización. Se pretende llenar el vacío de conocimiento que existe sobre el impacto de la inulina en la cicatrización de heridas teniendo en cuenta la escasa información que existe en la literatura universal sobre este tema.

El estudio de la aplicación de la inulina en el proceso de cicatrización *in vitro* e *in vivo* en un modelo murino tiene el potencial de generar nuevo conocimiento científico, ofrece una solución accesible y económica. El estudio puede sentar las bases para futuras investigaciones sobre los efectos de otros compuestos de origen natural en la cicatrización, ampliando el horizonte de las terapias basadas en productos naturales. Se espera que los resultados contribuyan al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para mejorar la cicatrización, reduciendo así el riesgo de complicaciones severas como infecciones y amputaciones.

3. HIPÓTESIS

La inulina de achicoria y agave azul mejorará el proceso de cicatrización *in vitro* en las líneas celulares de queratinocitos y fibroblastos, e *in vivo* en un modelo murino.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la inulina de achicoria y agave azul sobre la actividad cicatrizante *in vitro* en las líneas celulares de queratinocitos y fibroblastos, e *in vivo* en un modelo murino.

4.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar la viabilidad celular de los fibroblastos y queratinocitos por el ensayo de MTT después de la co-incubación con inulina.

2. Analizar las cinéticas del “cierre de herida” en un modelo *in vitro* debido a la migración de fibroblastos y queratinocitos, inducidas por la inulina.

3. Determinar la actividad cicatrizante de la inulina en lesiones inducidas en un modelo murino, mediante el análisis de la cinética de cierre de la herida.

5. METODOLOGÍA

Para llevar a cabo la metodología se trabajó con tres tipos de inulinas,

-Inulina de achicoria (*Cichorium intybus*) adquirida de Sigma-Aldrich (Estados Unidos). (ver Anexo A)

- Inulina de achicoria (*Cichorium intybus*) en presentación comercial de suplemento alimenticio, distribuida por la marca Ebien (Querétaro, México). (ver Anexo B)

- Inulina de agave azul (*Agave tequilana Weber* var. azul) en presentación comercial de suplemento alimenticio, adquirida como NBF Inulina de Agave Orgánica en Polvo (NBF Company, Jalisco, México). (ver Anexo C)

La inclusión de dos inulinas de achicoria tuvo como propósito comparar la respuesta biológica de un material purificado de referencia con la de un producto comercial del mismo origen botánico, estas inulinas difieren en su presentación y en la información de composición disponible por parte de los fabricantes disponibles en Anexo A y B (estas especificaciones corresponden a la información comercial disponible y no constituyen una comparación analítica directa entre ambas preparaciones). Mientras que la inulina de agave azul se incorporó para explorar posibles diferencias en la respuesta biológica asociadas con el origen botánico de la materia prima. No se contó con una caracterización fisicoquímica experimental de las inulinas; por lo que no se dispuso de información técnica y comparable para establecer diferencias en cuanto a pureza, grado de polimerización, distribución de longitud de cadenas y composición de fructanos entre las tres inulinas. Por tanto, estos parámetros no fueron considerados como variables experimentales controladas y las posibles diferencias en la respuesta biológica se interpretaron teniendo en cuenta esta limitación

5.1. Fase I *in vitro*

5.1.1 Preparación de células y condiciones de cultivo

Se utilizaron dos líneas celulares, una de queratinocitos humanos HaCaT y otra de fibroblastos HDFn (Primary Dermal Fibroblast Normal; Human, Neonatal ATCC, PCS-201-010). Las líneas se cultivaron en medio de Eagle modificado de Dulbecco

(DMEM/F12) (ver Anexo D) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, penicilina-estreptomicina al 1 % (100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomicina), glutamina al 1 %, piruvato sódico al 1 % y aminoácidos no esenciales al 1 %; los reactivos y suplementos utilizados fueron adquiridos de la marca GIBCO (Thermo Fisher Scientific). Luego se incubaron en una incubadora con condiciones a 37 ^{0}C con 5 % CO_2 y 95 % de humedad.

5.1.2 Ensayo de viabilidad celular

Se realizó el ensayo de bromuro de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio (MTT) para evaluar la viabilidad de las células después de ser tratadas con la solución de inulina. Se sembraron 4 x 10^3 células por pozo en placas de cultivo con 96 pozos. Se añadió a cada pozo concentraciones diferentes de la solución de inulina (12.5, 25, 50,100, 200, 400, 800 y 1600 µg/ml) y se incubaron por 72 horas a 37 ^{0}C con un 5 % de CO_2. Como control se usaron pozos sin tratamiento y como control citotóxico otros pozos fueron tratados con DMSO al 10%. Pasadas las 72 horas se añadió 100 µl (5 mg/ml; Biomatik) del reactivo MTT a cada pozo y se midió la absorbancia con un lector de placa (Biotek Synergy HTX) a 570 nm. Todos los experimentos se realizaron por triplicado experimental con su respectivo triplicado técnico.

5.1.3 Ensayo de migración de celular

Esta prueba se realizó para ilustrar la migración de células después del tratamiento. Un total de 21 x 10^5 células para queratinocitos y 25 x 10^5 células para fibroblastos, se sembraron en placas Petri de 35 x 10 mm. Después de que las células fueron incubadas durante 24 horas, el rasguño se creó en medio de cada pozo usando una punta estéril de 1000 µl, se realizó dos lavados con PBS para eliminar células desprendidas en el rasgado. Luego se aplicaron las soluciones de inulina a concentraciones de 12.5, 400 y 1600 µg/ ml. A todas las placas se les incorporó antimitótico (Mitomicina C 10µM) para controlar la proliferación celular. Como control, una placa no se trató con inulina. El rasguño y la migración de las células se fotografiaron con un microscopio invertido a las 0, 24 y 48 horas para su posterior análisis de los datos con el analizador ImageJ. Todos los experimentos se realizaron

por triplicado experimental. Para evaluar el porcentaje de cierre de herida por migración celular se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de cierre de herida } (x) = \frac{(\text{Área de la herida a las 0 horas} - \text{Área de la herida a las } x \text{ horas})}{\text{Área de la herida a las 0 horas}} * 100$$

5.2. Fase II *in vivo*

5.2.1 Animales

Para la realización de este estudio se utilizaron ratones hembras de la cepa CD1 obtenidos del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UAEM, con 4 semanas de edad y peso corporal de entre 25 a 30 g al inicio del experimento. Estos se mantuvieron bajo condiciones ambientales controladas de temperatura (21 ± 1 °C), humedad relativa ambiental de 45-55 % y con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. Previo y durante los experimentos las ratonas tuvieron acceso a agua y alimento *ad libitum*. Fueron alimentadas con pellets de alimento estándar (Rodent diet, Círculo ADN SA de CV.), el cual cumple con los requerimientos nutricionales para roedores.

5.2.2 Diseño experimental

Los animales fueron distribuidos en cinco grupos experimentales, grupo control negativo (agua), grupo tratamiento (inulina) y grupo control positivo (pirfenidona) (ver Anexo E), considerando un tamaño de muestra de cinco animales por grupo. Los ratones fueron evaluados de manera individual y en grupo. El tratamiento se aplicó los días 0,1 y 3, se administró 10µl de cada solución.

5.2.3 Inducción de herida

La evaluación del procedimiento se realizó a través de una cinética comparando el tamaño de las escisiones expuestas a los tratamientos a lo largo del tiempo experimental. Se rasuró el pelo del dorso de los ratones bajo anestesia, administrando pentobarbital (1 mg/kg de peso corporal i.p.; ARANDA, lote 206021). Luego, se procedió a realizar una herida circular utilizando un punch de biopsia de 5 mm de diámetro. Después de la intervención se procedió al registro fotográfico y se devolvió a los ratones a sus jaulas para permitirles recuperarse de la anestesia.

5.2.4 Cinética de cicatrización

Para monitorear el proceso de cicatrización, se tomó un seguimiento fotográfico de las heridas en los días 0, 1, 3, 6, 8, y 10 después de la inducción de la herida. En cada uno de estos días, los ratones fueron colocados en el microscopio estereoscópico (VELAB VE-S5) para la toma de imágenes, las fotografías de las heridas de cada ratón se tomaron a una distancia de 100 mm con un zoom de 2x.

Las imágenes obtenidas fueron analizadas con el software ImageJ. De cada ratón se seleccionaron las cinco mejores fotografías, en las cuales se delimitó el área de la herida medida en pixeles. Con estos cinco valores se calculó un único valor promedio por ratón. Posteriormente, en cada grupo experimental, se promediaron los valores individuales para obtener el valor de área correspondiente a cada día de evaluación. Con los datos promedio del área de la herida obtenidos a lo largo del tiempo, se construyó el curso temporal de cierre de la herida. Este análisis permitió evaluar la cinética de cicatrización y describir de manera comparativa el proceso de curación en los grupos experimentales. Para el cálculo del porcentaje de cierre de herida se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de cierre de herida al día } (x) = \left(1 - \frac{\text{Área de la herida al día (x)}}{\text{Área de la herida al día 0}} \right) * 100$$

5.3 Análisis estadístico

Se desarrolló una base de datos para recopilar la información obtenida, la captura de los datos se realizó en hojas de cálculo del programa Excel de Microsoft Office y el procesamiento de datos se llevó a cabo en el programa estadístico GraphPad PRISM, versión 9. Los resultados son expresados en media aritmética, desviación estándar (DE), error estándar y área bajo la curva (AUC). Para evaluar si los datos se distribuyeron con normalidad se utilizó la prueba Shapiro Wilk y la significación de las diferencias entre los grupos se tomó cuando la $p< 0.05$. Considerando que los datos presentaron una distribución paramétrica, se realizó el análisis de la varianza (ANOVA de una y dos vías), seguido de la prueba post-hoc de Tukey y/o Dunnet para la comparación de los grupos.

5.4 Aspectos éticos y de bioseguridad

Todos los experimentos *in vivo* fueron realizados siguiendo los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, donde se dan especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Además, el protocolo constó con la aprobación del Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CCUAL) de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, con el número de autorización: 006/2022.

5.5 Recursos y colaboraciones

El presente proyecto de investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. La fase *in vitro* se desarrolló en el cuarto de cultivo celular del Laboratorio 11 de la Facultad de Medicina y la fase *in vivo* se realizó en el Laboratorio 13 de la misma facultad. El proyecto contó con la participación del tesista responsable, director y codirector de tesis, con apoyo técnico y académico de los colaboradores adscritos a la Facultad de Medicina. Las fuentes de financiamiento incluyen recursos institucionales y apoyos internos de laboratorio.

6. RESULTADOS

En el presente trabajo, evaluamos la capacidad de la inulina achicoria y de agave azul sobre la cicatrización en modelo murino, así como la evaluación de su toxicidad y su actividad migratoria en líneas celulares de fibroblastos y queratinocitos humanos. De tal modo que, en un futuro próximo, pudiera ser una molécula candidata con potencial uso terapéutico para el tratamiento de heridas y en especial lesiones por pie diabético.

6.1 Ensayo de viabilidad celular en queratinocitos

Mediante el ensayo de MTT se evaluó la viabilidad celular de queratinocitos HaCaT, considerando como control basal las células en medio de cultivo celular sin tratamiento, el cual se normalizó como el 100 % de viabilidad celular; como control de citotoxicidad las células fueron tratadas con DMSO al 10 % que presentó una media de viabilidad celular de aproximadamente 20 %. El tratamiento con inulina de achicoria (SIGMA) analizado mediante ANOVA de una vía mostró que se modificó significativamente la viabilidad celular de los queratinocitos (p= <0.0001****), el análisis post hoc de Tukey identificó diferencias entre el control (células sin tratamiento) y las concentraciones evaluadas de 100 µg/ml (p= 0.0117*), 200 µg/ml (p= 0.0030**), 800 µg/ml (p= 0.0091**) y 1600 µg/ml (p= 0.0233*). Entre el DMSO al 10% y todas las concentraciones evaluadas se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p<0.0001**** en todas las comparaciones). La media de viabilidad celular de las 8 concentraciones fue de 126.2 %, por encima del 100 % de viabilidad del control positivo (Figura 2A).

La viabilidad celular de los queratinocitos tratados con inulina de achicoria (suplemento) fue analizada mediante ANOVA de una vía, mostrándose diferencias globales significativas (p< 0.0001****); la prueba post hoc de Tukey reveló que todas las concentraciones presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto a ambos controles. Las diferencias entre el control (células sin tratamiento) y las concentraciones de 12.5, 50, 400, 800, y 1600 µg/ml tuvieron un valor p < 0.0001****, mientras que las concentraciones de 25, 100 y 200 µg/ml presentaron valor p= 0.0016**, 0.0004*** y 0.0045** respectivamente. Entre el DMSO 10% y las concentraciones todas mostraron diferencias estadísticamente significativas con

valor p< 0.0001****. La media de viabilidad celular de las 8 concentraciones fue de 126.1 %. (Figura 2B). En los queratinocitos tratados con inulina de agave azul se observaron cambios significativos en la viabilidad celular, el ANOVA de una vía mostró diferencias globales significativas (p <0.0001****). La prueba post hoc de Tukey no evidenció diferencias entre el control (células sin tratamiento) y las concentraciones evaluadas (p> 0.05 en todas las comparaciones), a excepción de la concentración de 1600 µg/ml (p= 0.0093**). Entre el DMSO 10% y todas concentraciones se evidenció diferencias estadísticamente significativas (p< 0.0001****). En el tratamiento de inulina de agave azul se aprecia una tendencia al aumento de la viabilidad celular en queratinocitos a mayor dosis, efecto no visto en las otras inulinas evaluadas. La media de viabilidad celular de las 8 concentraciones fue de 121.1 %. (Figura 2C).

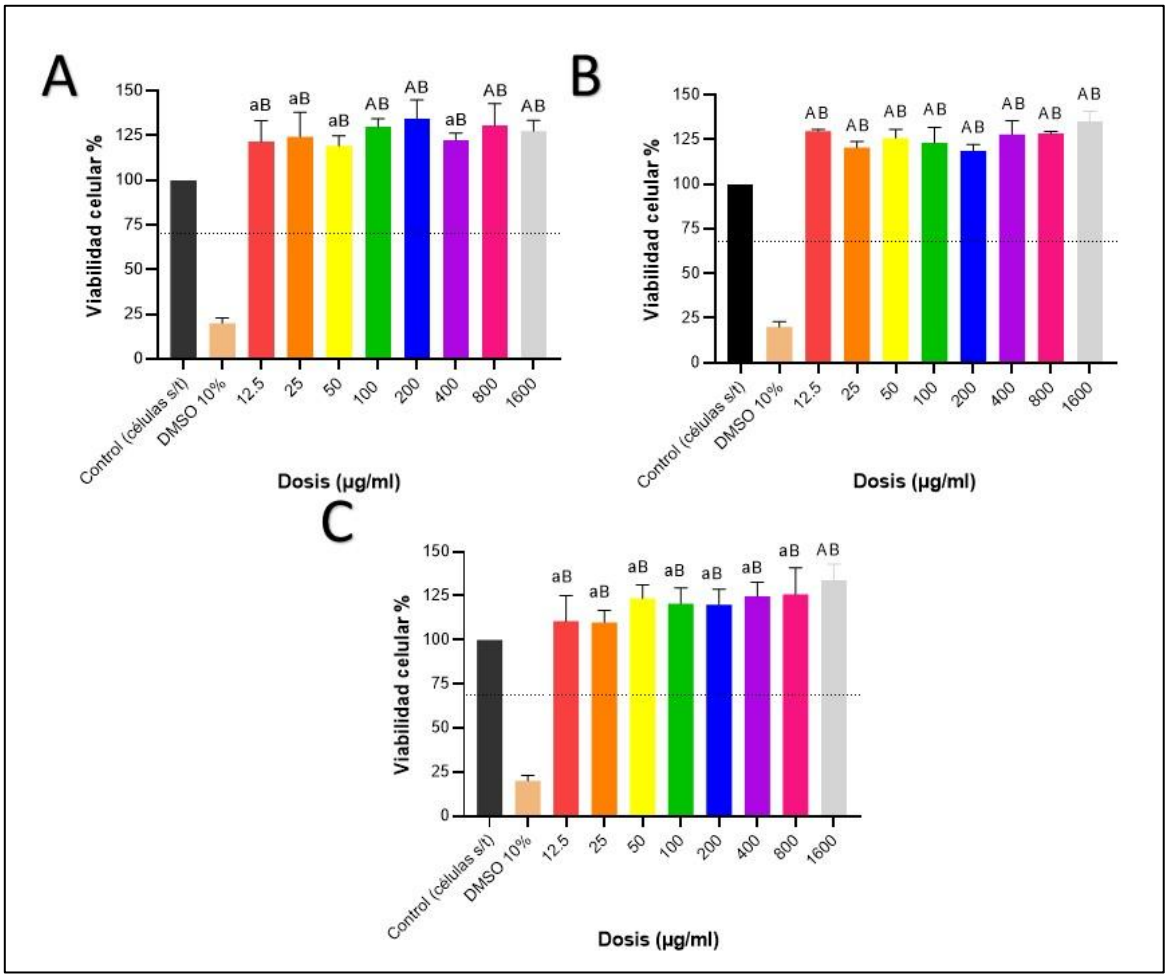


Figura 2. Efecto de los tratamientos A. Inulina de achicoria (SIGMA), B. Inulina de achicoria (suplemento) y C. Inulina de agave azul (suplemento) sobre la viabilidad celular de queratinocitos a concentración de 12.5, 25, 50,100, 200, 400, 800 y 1600 µg/ml, control (células sin tratamiento) y DMSO 10%. Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediante ANOVA de una vía seguida de la prueba post hoc de Tukey. Significancia estadística, letras minúsculas para cuando no hay diferencias y letras mayúsculas para cuando hay diferencias. aA para control y bB para DMSO 10%.

El análisis del AUC para estimar el efecto global que presentaron los tres tipos de inulinas, no mostró diferencias significativas entre tratamientos (p= 0.2534) realizado mediante ANOVA de una vía, lo que indica que las tres inulinas presentan un efecto muy similar de forma general sobre la viabilidad celular de queratinocitos. (Figura 3)

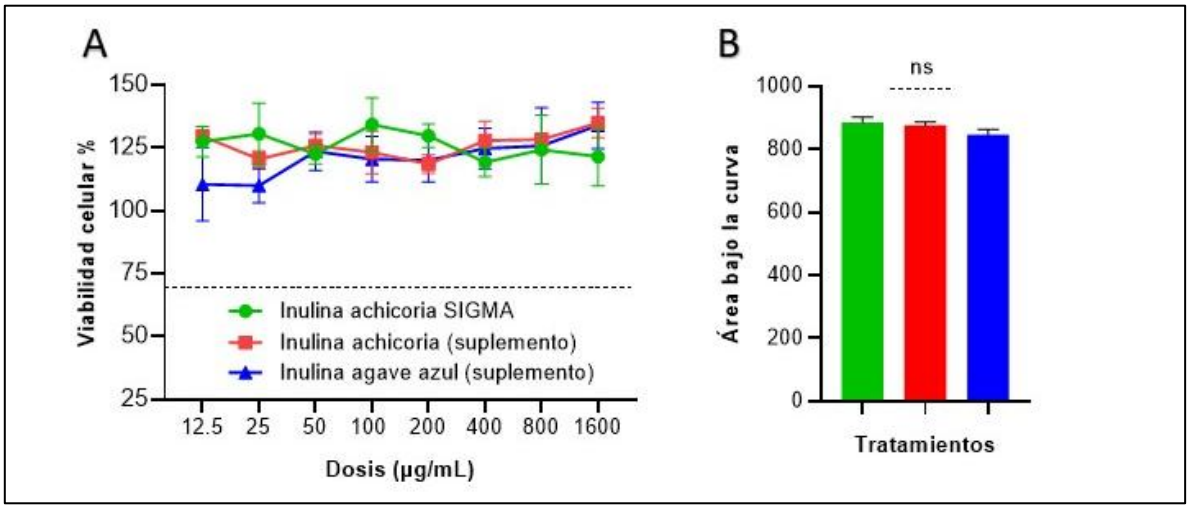


Figura 3. A. Efecto de los tres tratamientos sobre la viabilidad celular de queratinocitos a concentración desde 12.5 hasta 1600 µg/ml. B. AUC de los tres tipos de inulina sobre viabilidad celular en queratinocitos. Los datos se presentan como media ± desviación estándar (A) y ± EE (B). Análisis realizado mediante ANOVA de una vía seguida de la prueba post hoc de Tukey. Significancia estadística p>0.05 (ns), p< 0.05(*), p< 0.01(**), p < 0.001(***), p < 0.0001(****).

En los tratamientos con las tres inulinas a tres concentraciones (12.5, 200 y 1600 µg/ml), no se observaron diferencias morfológicas ni variaciones considerables en la densidad celular entre las distintas concentraciones evaluadas (Figura 4). En todos los casos, los queratinocitos tratados con inulina presentaron una mayor densidad celular y una morfología similar en comparación con el control; por el contrario, en el DMSO 10% se observó una marcada disminución en la cantidad de

células viables, con escasa presencia celular en el campo visual, datos que concuerdan con lo anteriormente descrito en el análisis cuantitativo.

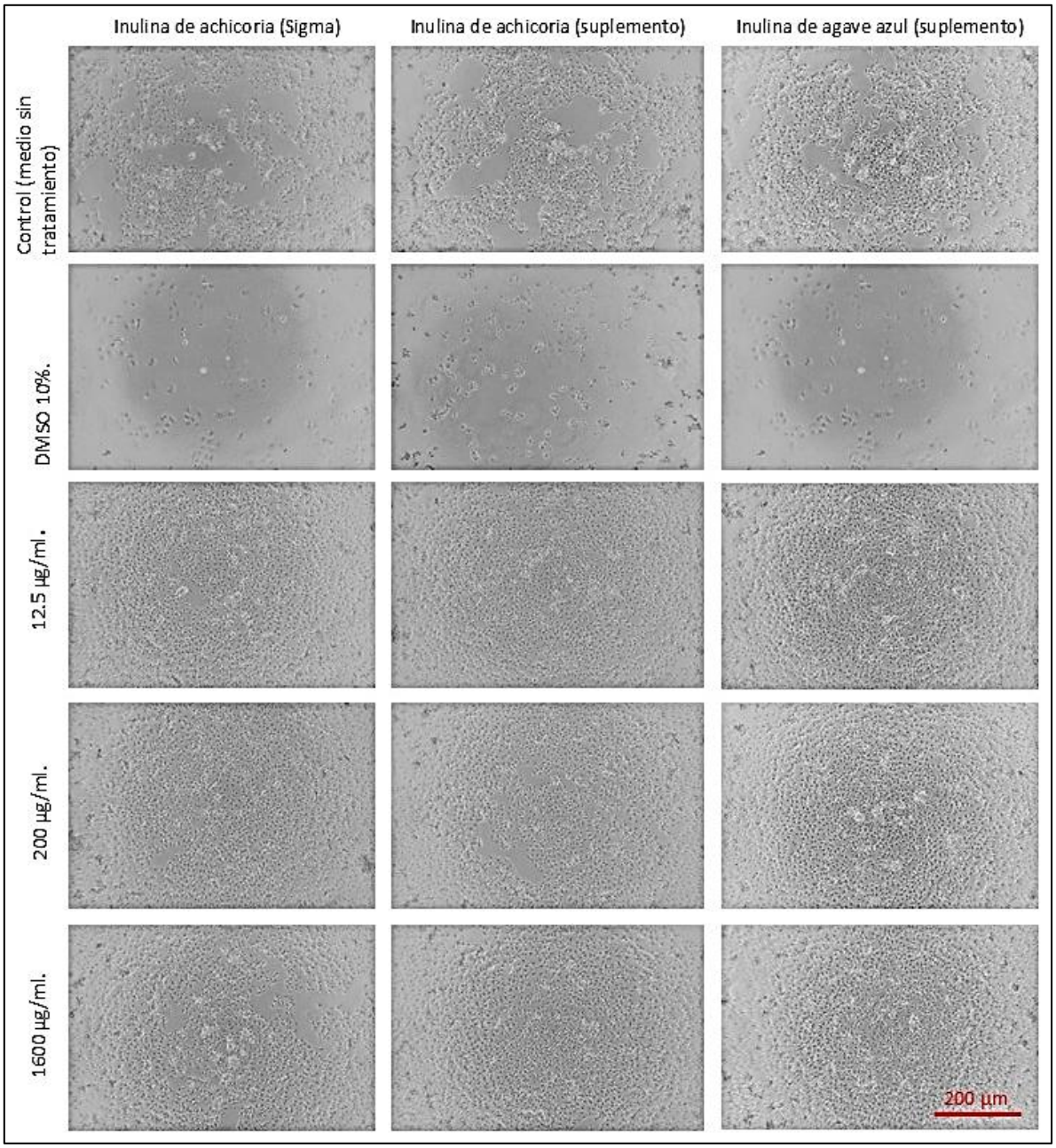


Figura 4. Microfotografías del efecto de las tres inulinas sobre la viabilidad celular de queratinocitos mediante ensayo de MTT, a concentraciones de 12.5, 200 y 1600 µg/ml, control y DMSO 10%. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X).

6.2 Ensayo de viabilidad celular en fibroblastos

Mediante el ensayo de MTT se evaluó la viabilidad celular de fibroblastos HDFn, considerando como control las células en medio de cultivo celular sin tratamiento, el cual se normalizó como el 100 % de viabilidad celular; el control de citotoxicidad corresponde a las células tratadas con DMSO al 10 % que presento una media de viabilidad celular de aproximadamente 22 %. El tratamiento con inulina de achicoria

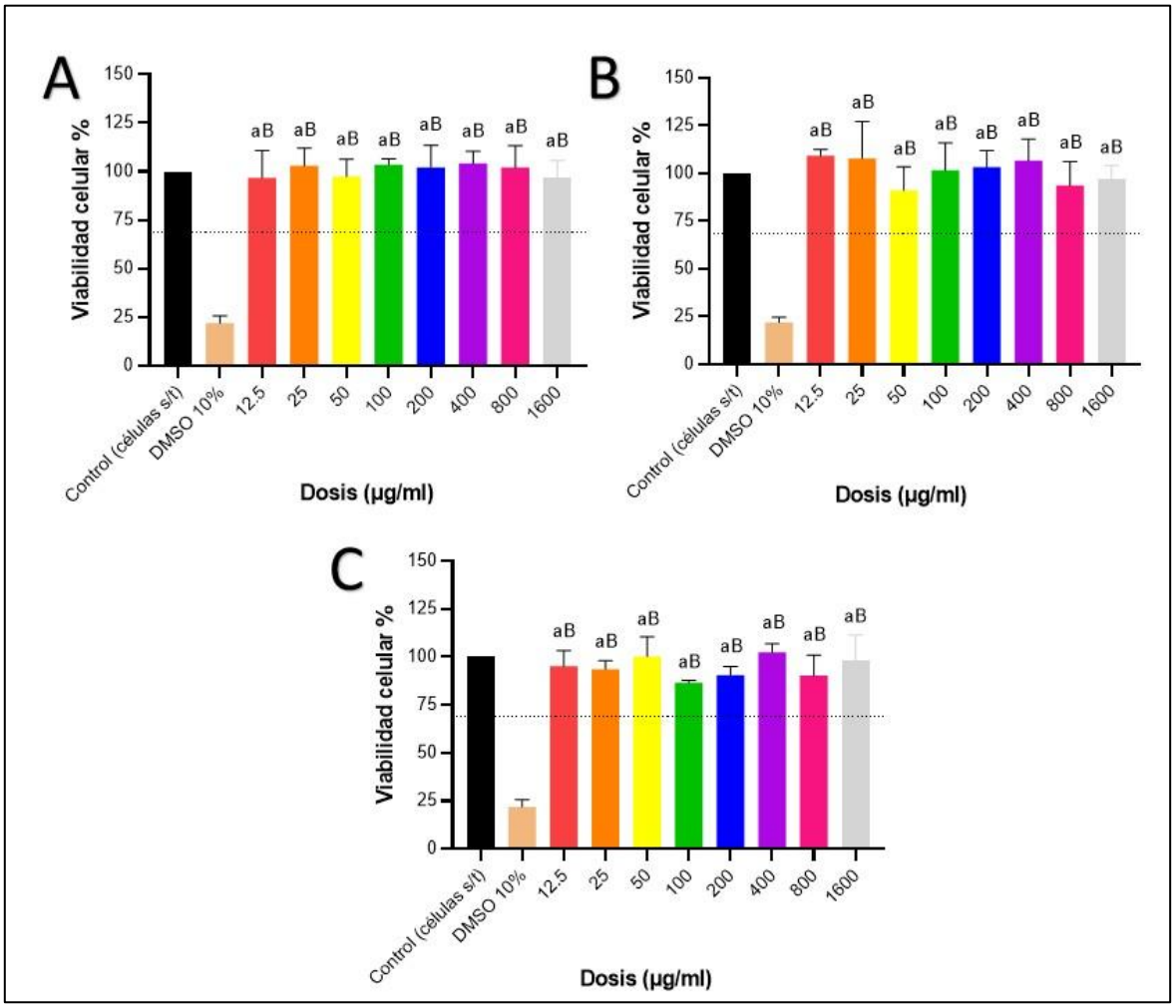


Figura 5. Efecto de los diferentes tratamientos A. Inulina de achicoria (SIGMA), B. Inulina de achicoria (suplemento) y C. Inulina de agave azul (suplemento) sobre la viabilidad celular de fibroblastos a concentración de 12.5, 25, 50,100, 200, 400, 800 y 1600 µg/ml, control (células sin tratamiento) y DMSO 10%. Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediante ANOVA de una vía seguida de la prueba post hoc de Tukey. Significancia estadística, letras minúsculas para cuando no hay diferencias y letras mayúsculas para cuando hay diferencias. aA para control y bB para DMSO 10%.

(SIGMA) analizado mediante ANOVA de una vía mostró que se modificó significativamente la viabilidad celular de los fibroblastos (p= <0.0001****), el análisis post hoc de Tukey no identificó diferencias entre el control (células sin tratamiento) y las diferentes concentraciones evaluadas (p>0.05 en todas las comparaciones); mientras que respecto al DMSO 10% todas las concentraciones presentaron diferencias estadísticamente significativas (p <0.0001****). La media de viabilidad celular de las 8 concentraciones fue de 100.7 % (Figura 5A).

En los fibroblastos tratados con inulina de achicoria (suplemento) se observó efectos globales significativos sobre la viabilidad celular, el ANOVA de una vía mostró diferencias (p< 0.0001****), la prueba post hoc de Tukey no evidenció diferencias entre el control (células sin tratamiento) y ninguna de las concentraciones evaluadas (p> 0.05 en todas las comparaciones), pero si respecto al DMSO 10 % (p< 0.0001**** en todas las comparaciones). La media de viabilidad celular de las 8 concentraciones fue de 101.3 % (Figura 5B). El análisis mostró que no hubo diferencias significativas en la viabilidad celular de fibroblastos entre el control (células sin tratamiento) y ninguna de las concentraciones evaluadas de inulina de agave azul mediante la prueba de ANOVA, seguido de la prueba post hoc de Tukey (p> 0.05); sin embargo, en comparación con el DMSO 10% todas presentaron diferencias estadísticamente significativas (p< 0.0001****). La media de viabilidad celular de las 8 concentraciones fue de 94.7 % (Figura 5C).

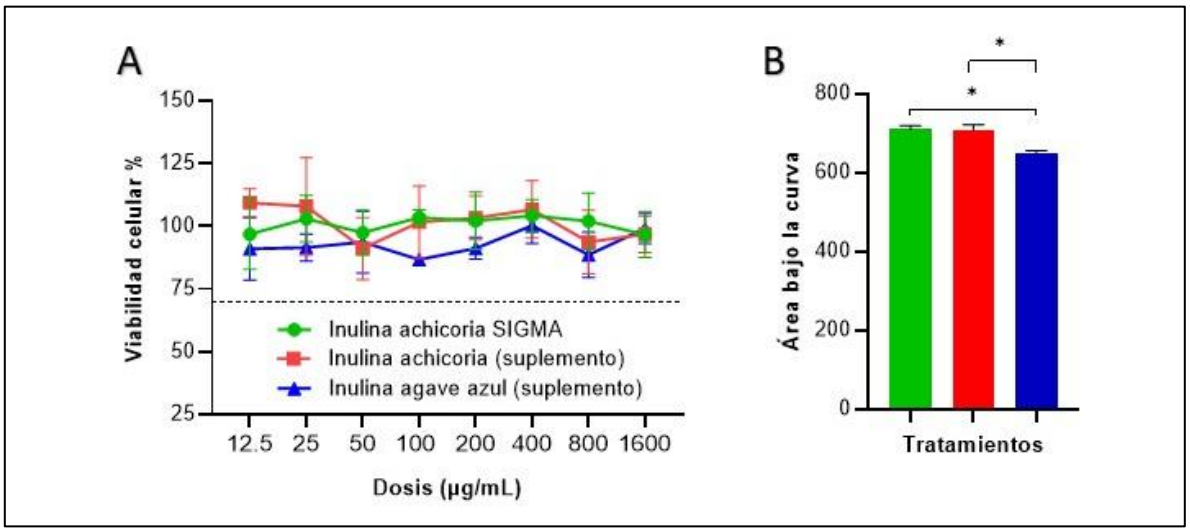


Figura 6. A. Efecto de los tres tratamientos sobre la viabilidad celular de fibroblastos a concentración

desde 12.5 hasta 1600 µg/ml. B. AUC de los tres tipos de inulina sobre viabilidad celular en fibroblastos. Los datos se presentan como media ± desviación estándar (A) y ± EE (B). Análisis realizado mediante ANOVA de una vía seguida de la prueba post hoc de Tukey. Significancia estadística p>0.05 (ns), p< 0.05(*), p< 0.01(**), p < 0.001(***), p < 0.0001(****).

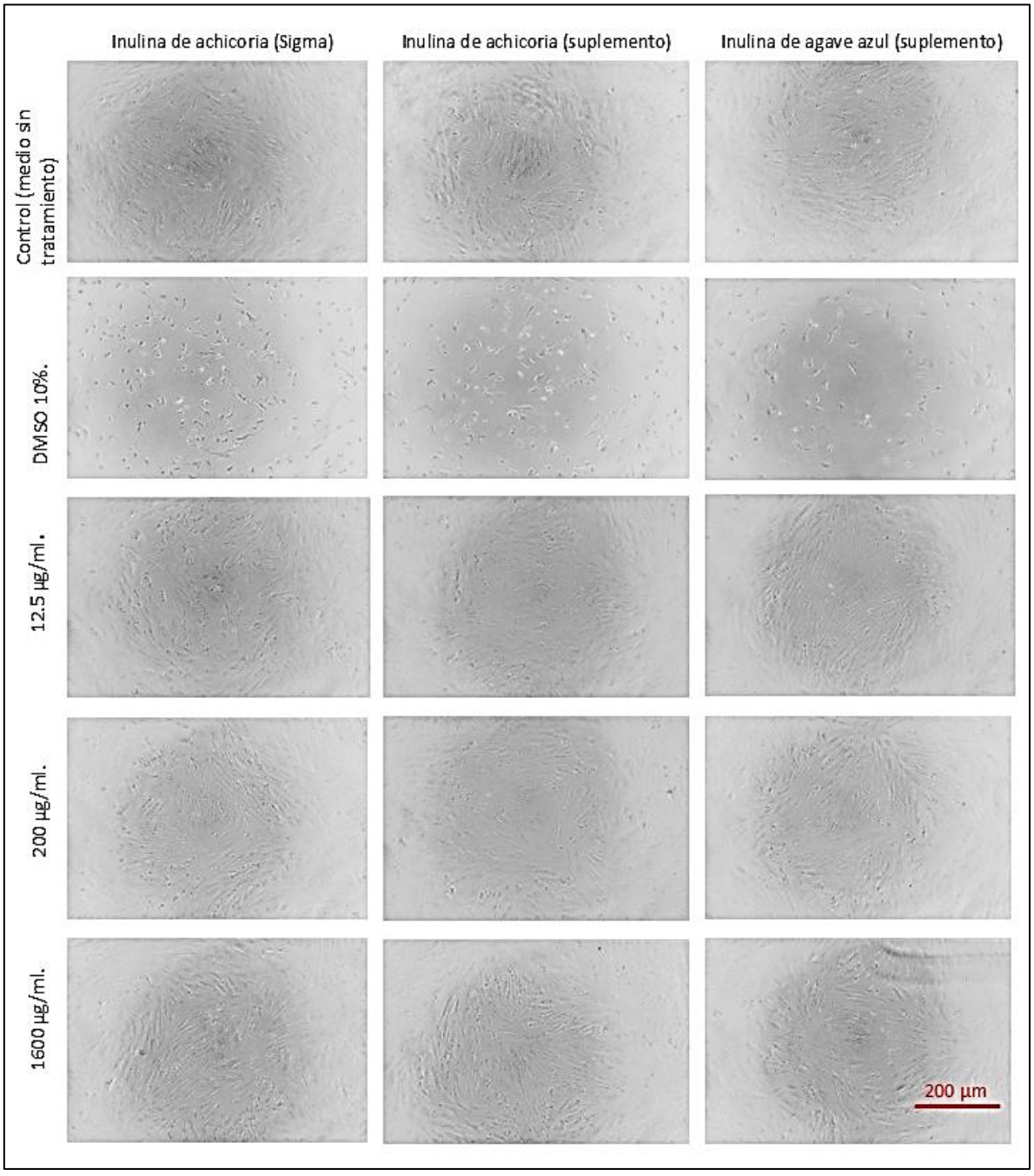


Figura 7. Microfotografías del efecto de las tres inulinas sobre la viabilidad celular de fibroblastos mediante ensayo de MTT, a concentraciones de 12.5, 200 y 1600 µg/ml, control (células sin tratamiento) y DMSO 10%. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X).

El análisis del AUC que presentaron las tres inulinas evaluadas reveló diferencias significativas en el efecto global de los tratamientos sobre los fibroblastos (p= 0.0104*), realizado mediante ANOVA de una vía, la prueba post hoc de Tukey identificó diferencias entre la inulina achicoria (SIGMA) e inulina de achicoria (suplemento) frente a la inulina de agave azul, con valor p= 0.0156* y p= 0.0174* respectivamente, lo cual indica que en esta línea celular ambas inulinas de achicoria presentaron un ligero efecto mayor sobre la inulina de agave azul . (Figura 6).

En los tratamientos con las tres inulinas a tres concentraciones (12.5, 200 y 1600 µg/ml) en la línea celular de fibroblastos, no se observaron diferencias morfológicas, ni variaciones considerables en la densidad celular entre las distintas concentraciones evaluadas (Figura 7). En todos los casos, los fibroblastos tratados con inulina presentaron una densidad celular y una morfología muy similar en comparación con el control (células sin tratamiento); a diferencia del DMSO 10% en el que, si se observó una marcada disminución de la cantidad de células en el campo visual, datos que se ven reflejados en los gráficos anteriormente mostrados.

6.3 Ensayo de migración celular en queratinocitos

Los resultados del ensayo de migración celular en la línea celular de queratinocitos mostraron que el tratamiento con inulina de achicoria (SIGMA) favorece la migración celular en comparación con el control (células sin tratamientos), este último presentó un porcentaje de cierre de herida de 18.9 ±1.9 y 30.0 ±1.9 a las 24 y 48 horas respectivamente. A las 24 horas (Figura 8A), se observó un incremento significativo en el porcentaje de cierre de herida de las 3 concentraciones evaluadas, con porcentaje de cierre de herida de 31.9 ±4.0, 35.1 ±5.4, y 42.2 ±8.7 para la dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml respectivamente. En comparación con el control, la dosis de 12.5 µg/ml mostró diferencia estadísticamente significativa (p= 0.0255*), mientras que las dosis de 400 y 1600 µg/ml presentaron una diferencia mayor respecto al control (p= 0.0058** y p= 0.0002***, respectivamente). A las 48 horas (Figura 8B), se observó también un incremento significativo en el porcentaje de cierre de las 3 concentraciones, con porcentaje de cierre de herida de 46.3 ±6.4, 54.8 ±3.0 y 55.3 ±7.5 para la dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml respectivamente. Todas las dosis mostraron diferencias aún mayores respecto al control, la dosis de 12,5 µg/ml (p=

0.0055**), 400 µg/ml (p= 0.0001***) y 1600 µg/ml (p< 0.0001****). Estos resultados indican un efecto dependiente de la concentración, ya que a mayor dosis se promueve una mayor migración celular de los queratinocitos tanto en las 24 como en las 48 horas corroborándose en las microfotografías de cierre de herida de queratinocitos tratados (Figura 8C).

En el tratamiento con inulina de achicoria (suplemento) se obtuvieron resultados diferentes respecto a la anterior inulina, la dosis de 12.5 µg/ml fue la que presento un mejor porcentaje de cierre de herida por migración celular en la línea celular de queratinocitos con 35.1 ± 2.0 y 54.2 ±5.3 porcentaje a las 24 (Figura 9A) y 48 (Figura 9B) horas respectivamente. Con diferencias estadísticamente significativas tanto a las 24 como a las 48 horas (p= 0.0064** y p= 0.0002*** respectivamente). Sin embargo, contrario a lo esperado las dosis de 400 y 1600 µg/ml presentaron menores porcentajes de cierre de herida con 28.1 ±6.3 a las 24 horas (Figura 9A) y 44.0 ±8.6 a las 48 (Figura 9B) horas para la dosis de 400 µg/ml, valores mayores respecto al control, pero menores respecto a la dosis de 12.5 µg/ml, alcanzando significancia solo a las 48 horas (p= 0.0173*). El tratamiento a 1600 µg/ml logro porcentajes aún menores con 27.3 ±4.9 y 36.5 ±7.6 a las 24 y 48 horas respectivamente (Figura 9A y B), sin diferencias estadísticamente en ninguno de los 2 tiempos de evaluación. Las microfotografías que corresponden a este tratamiento (Figura 9C) muestran un comportamiento consistente con los resultados cuantitativos, se observa una mayor reducción del área de la herida en las células que recibieron la dosis de 12.5 µg/ml, sin embargo, las concentraciones de 400 y 1600 µg/ml presentan un retraso más evidente en el cierre.

En el tratamiento de inulina de agave azul a las 24 horas (Figura 10A), evidencio un porcentaje de cierre de herida de 27.1 ±3.1, 32.2 ±4.3 y 36.7 ±4.0 para la dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml respectivamente. Con diferencias estadísticamente significativas respecto al control, la dosis de 12.5 µg/ml mostró menor diferencia (p= 0.0228*), mientras que la dosis de 400 y 1600 µg/ml mostraron diferencias mayores,

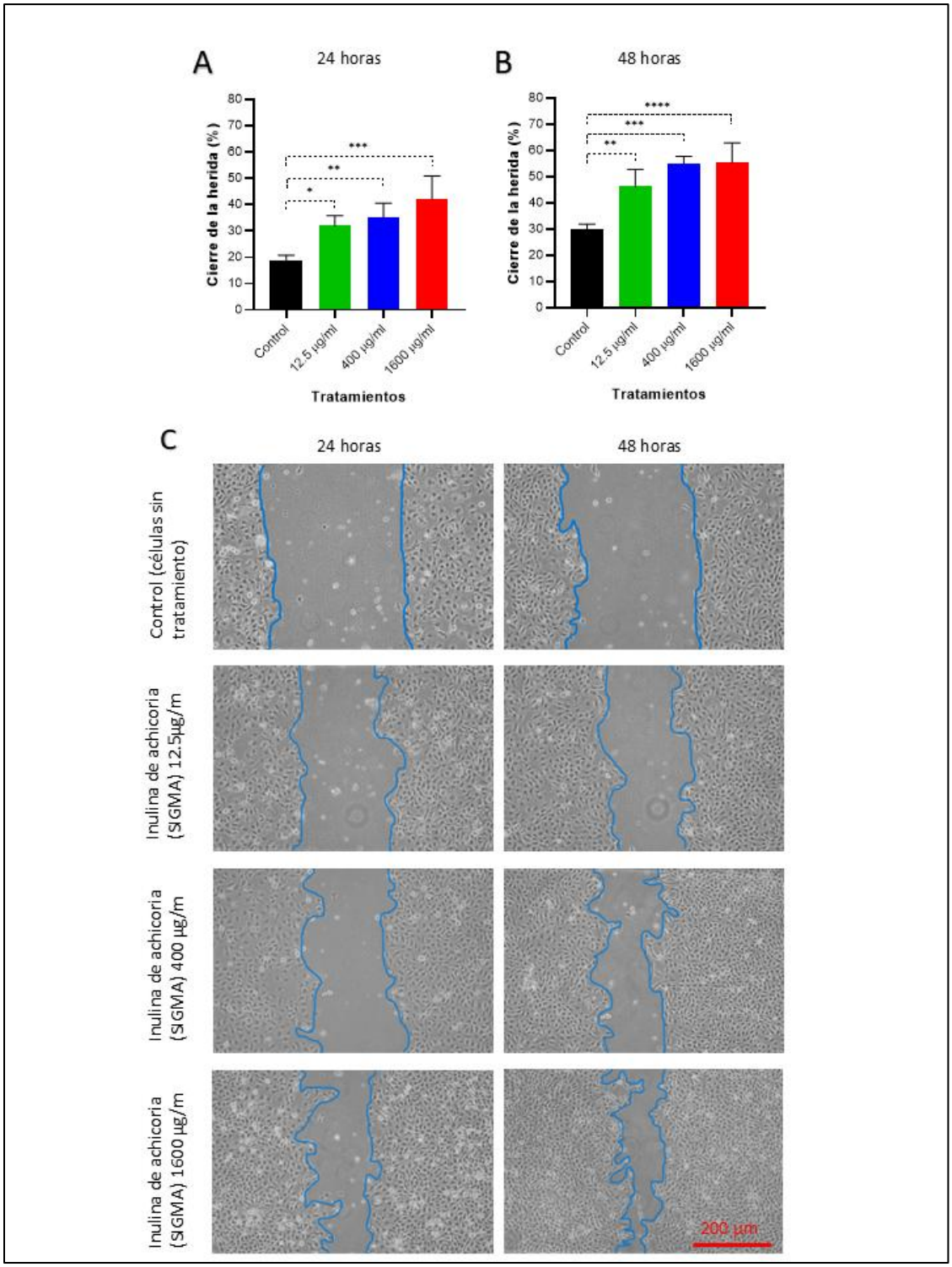


Figura 8. Efecto de la inulina de achicoria (SIGMA) en el cierre de herida por migración celular en queratinocitos. Porcentaje de cierre de herida a dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml a las 24 (A) y 48 horas (B). Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguida de la prueba post hoc de Dunnett. Significancia estadística $p>0.05$ (ns), $p< 0.05$(*), $p< 0.01$(**), $p < 0.001$(***), $p < 0.0001$(****). (C) Microfotografías del efecto de las tres dosis sobre la migración celular en queratinocitos, a concentraciones de 12.5, 400 y 1600 µg/ml y control. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X) a las 24 y 48 horas

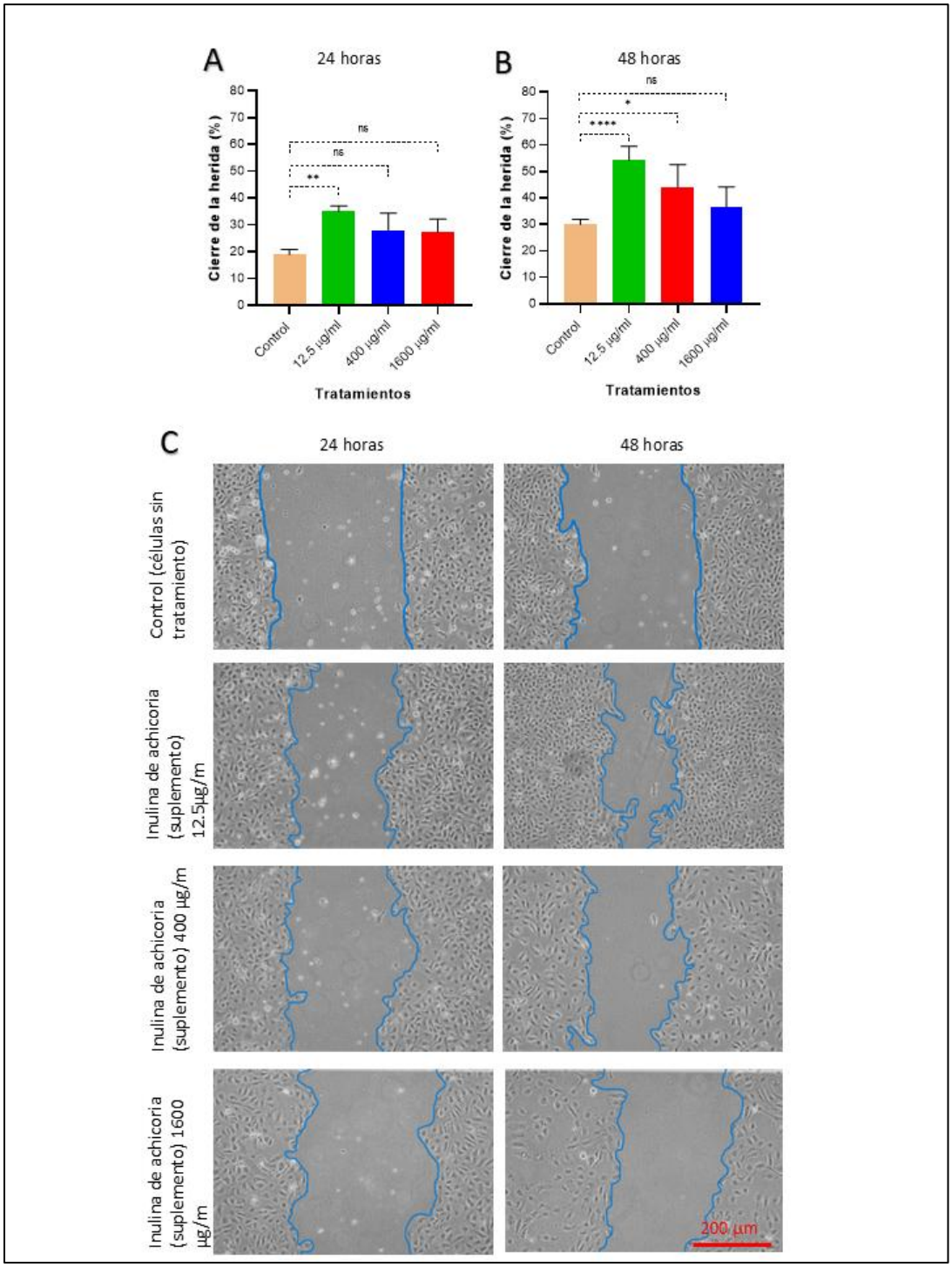


Figura 9. Efecto de la inulina de achicoria (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en queratinocitos. Porcentaje de cierre de herida a dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml a las 24 (A) y 48 horas (B). Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguida de la prueba post hoc de Dunnett. Significancia estadística p> 0.05 (ns), p< 0.05(*), p< 0.01(**), p < 0.001(***), p < 0.0001(****). (C) Microfotografías del efecto de las tres dosis sobre la migración celular en queratinocitos, a concentraciones de 12.5, 400 y 1600 µg/ml y control. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X) a las 24 y 48 horas

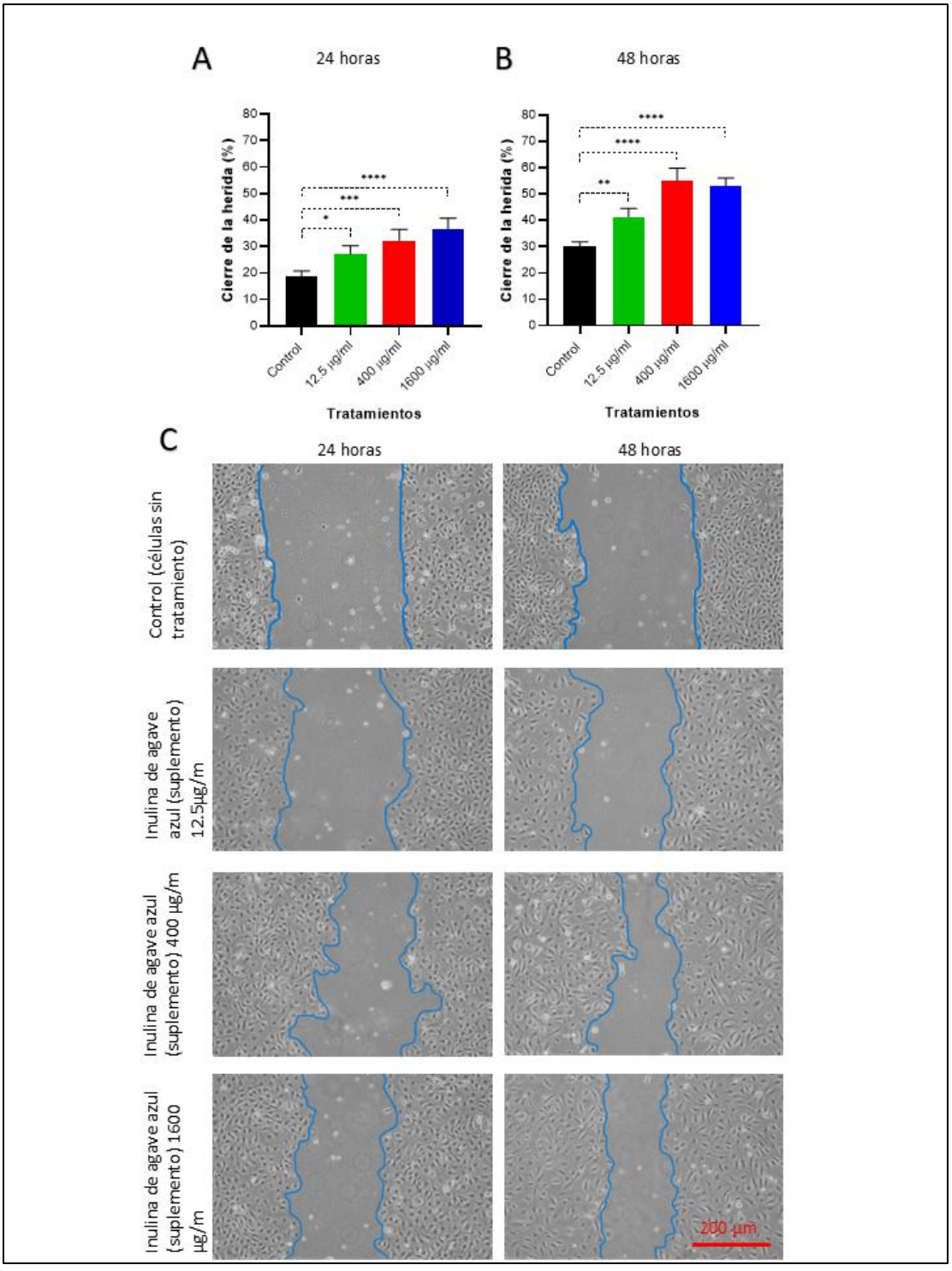


Figura 10. Efecto de la inulina de agave azul (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en queratinocitos. Porcentaje de cierre de herida a dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml a las 24 (A) y 48 horas (B). Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguida de la prueba post hoc de Dunnett. Significancia estadística p>0.05 (ns), p< 0.05(*), p< 0.01(**), p < 0.001(***), p < 0.0001(****). (C) Microfotografías del efecto de las tres dosis sobre la migración celular en queratinocitos, a concentraciones de 12.5, 400 y 1600 µg/ml y control. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X) a las 24 y 48 horas

(p= 0.0006***) y (p< 0.0001****) respectivamente. A las 48 horas (Figura 10B) presentó un comportamiento muy similar con porcentaje de migración celular de 41.4 ±3.1, 55.2 ±4.6 y 53.0 ±3.0 para la dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml respectivamente. Todas las dosis mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto al control, más evidente en las dosis de 400 y 1600 µg/ml (p <0.0001**** para ambas dosis), mientras que la dosis de 12.5 µg/ml tuvo una diferencia menor (p= 0.0021**). Esto sugiere que la inulina de agave azul mostró un efecto dependiente de la concentración, tal cual se aprecia en las microfotografías, ya que a mayor dosis se presentó una mayor migración celular de los queratinocitos tanto en las 24 como en las 48 horas, a excepción de la dosis de 1600 µg/ml a las 48 horas que presento un porcentaje de migración celular ligeramente inferior a la dosis de 400 µg/ml, contrario al comportamiento esperado (Figura 10C).

En la comparación del efecto de las tres inulinas evaluadas sobre la migración de queratinocitos, (Tabla 2) se aprecia que, de manera general, todos los tratamientos mostraron porcentajes de cierre superiores al control en los dos tiempos evaluados, lo que confirma el efecto inductor de la migración celular de dichas inulinas. También

Tabla 2. Comparación del porcentaje de cierre de herida por migración celular en queratinocitos tratados con inulinas a las 24 y 48 horas.

Tratamiento	**Dosis (µg/ml)**	**Porcentaje de cierre de herida a las 24 horas (media ± DE)**	**p vs Control**	**Porcentaje de cierre de herida a las 48 horas (media ± DE)**	**p vs Control**
Control (células sin tratamiento)	-	18.928 ±1.896	-	29.982 ±1.904	-
Inulina de achicoria (SIGMA)	12.5	31.934 ±3.996	0.0255*	46.292 ±6.423	0.0055**
	400	35.147 ±5.472	0.0058**	54.766 ±2.976	0.0001***
	1600	42.172 ±8.716	0.0002***	55.349 ±7.541	<0.0001****
Inulina de achicoria (suplemento)	12.5	35.072 ±2.004	0.0064**	54.175 ±5.344	0.0002***
	400	28.088 ±6.330	0.0905^{ns}	44.047 ±8.571	0.0173*
	1600	27.323 ±4.865	0.2104^{ns}	36.504 ±7.580	0.4062^{ns}
Inulina de agave azul (suplemento)	12.5	27.183 ±3.100	0.0228*	41.400 ±3.112	0.0021**
	400	32.199 ±4.323	0.0006***	55.246 ±4.615	<0.0001****
	1600	36.724 ±3.989	<0.0001****	53.080 ±3.035	<0.0001****

Los datos se expresan como media ± desviación estándar (DE). Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Dunnett, comparando cada tratamiento contra el control

(células sin tratamiento). Significancia estadística p>0.05 (ns), p< 0.05(*), p< 0.01(**), p < 0.001(***), p < 0.0001(****).

se observó que el porcentaje de cierre de herida fue mayor a las 48 horas respecto a las 24 horas, lo que indica un avance temporal del proceso de migración celular en todos los tratamientos. De forma general, de los tratamientos evaluados la inulina de achicoria (SIGMA) y la inulina de agave azul fueron los que presentaron mayores porcentajes de cierre de herida por migración celular y una tendencia dependiente de la concentración, sobre todo a las 24 horas. Mientras que la inulina de achicoria (suplemento) presentó un comportamiento diferente, las concentraciones mayores disminuyeron la migración, sin diferencias estadísticas respecto al control, pero mayores que el mismo.

6.4 Ensayo de migración celular en fibroblastos

El ensayo de migración celular en la línea celular de fibroblastos mostró en el control (células sin tratamientos) un porcentaje de cierre de herida de 26.5 ±8.3 y 67.3 ±4.3 a las 24 y 48 horas respectivamente.

El tratamiento con inulina de achicoria (SIGMA) a las 24 horas (Figura 11A) logró un aumento en el porcentaje de cierre de herida en las tres concentraciones evaluadas, con valores de 40.7 ±7.2, 58.6 ±3.7 y 50.5 ±5.9 para las dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml, respectivamente. La dosis de 12.5 µg/ml mostró una diferencia estadísticamente significativa (p= 0.0124*), mientras que las dosis de 400 y 1600 µg/ml mostraron diferencias mayores respecto al control (p< 0.0001**** y p =0.0001***, respectivamente). A las 48 horas (Figura 11B) se observó un incremento significativo también en el porcentaje de cierre de herida, con valores de 94.8 ±1.9, 99.4 ±0.5 y 95.1 ±4.8 para las dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml, respectivamente. Hubo diferencias muy significativas respecto al control (p <0.0001****) en las tres concentraciones evaluadas. Las microfotografías de este ensayo (Figura 11C) mostraron que los fibroblastos tratados con inulina de achicoria (SIGMA) presentaron una gran capacidad de migración celular en comparación con el control, con cierre total para la dosis de 400 µg/ml, y casi total para las dosis restantes a las 48 horas.

En el tratamiento con inulina de achicoria (suplemento) la dosis de 12.5 µg/ml fue la que presento mejores porcentajes de cierre de herida por migración celular en la línea celular de fibroblastos con valores de 43.4 ±0.7 y 91.4 ±0.9 porcentaje a las 24 y 48 horas respectivamente (Figura 12A y B). Con diferencias estadísticamente significativas tanto a las 24 como a las 48 horas (p= 0.0049** y p= 0.0002*** respectivamente). Sin embargo, contradictorio a lo esperado las dosis de 400 y 1600 µg/ml presentaron menor porcentajes de cierre de herida, la dosis de 400 µg/ml presentó valores de 31.0 ±6.7 a las 24 horas y 77.7 ±5.2 a las 48 horas, mientras que la dosis de 1600 µg/ml presento valores de 39.0 ±6.2 a las 24 horas y 71.8 ±6.2 a las 48 horas, porcentajes de cierres de herida mayores respecto al control, pero menores respecto a la dosis de 12.5 µg/ml, sin alcanzar significancia estadística p>0.05, a excepción de la dosis de 1600 µg/ml a las 24 horas con p= 0.0390* (Figura 12A y B). En las microfotografías representativas de este ensayo (Figura 12C), se aprecia una mayor reducción del área de la herida en la dosis de 12 µg/ml más evidente a las 48 horas, lo que concuerda con los datos cuantitativos anteriormente mencionados. En contraste la dosis de 400 y 1600 µg/ml presentan un menor cierre de herida, con un menor cierre a mayor dosis de inulina, mas sin embargo superiores al control en ambas dosis.

En el tratamiento de inulina de agave azul a las 24 horas (Figura 13A), evidencio un porcentaje de cierre de herida de 40.5 ±5.3, 49.0 ±7.3 y 36.5 ±4.1 para la dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml respectivamente. Con diferencias estadísticamente significativas respecto al control, la dosis de 12.5 y 400 µg/ml mostraron diferencias respecto al control (p= 0.0279* y 0.0007*** respectivamente), mientras que la dosis de 1600 µg/ml no mostró diferencias estadísticamente significativa. A las 48 horas (Figura 13B) el porcentaje de cierre de herida por migración celular fue de 69.7 ±1.9, 86.8 ±8.3 y 81.2 ±3.2 para la dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml respectivamente. La dosis de 12.5 µg/ml presento valor muy próximo al control (p> 0.05), por tanto, no tuvo diferencias estadísticamente significativa, mientras que las dosis de 400 y 1600 µg/ml si evidenciaron diferencias estadísticamente significativas (p= 0.0025** y p= 0.0296* respectivamente). Las microfotografías (Figura 13C) presentan un patrón

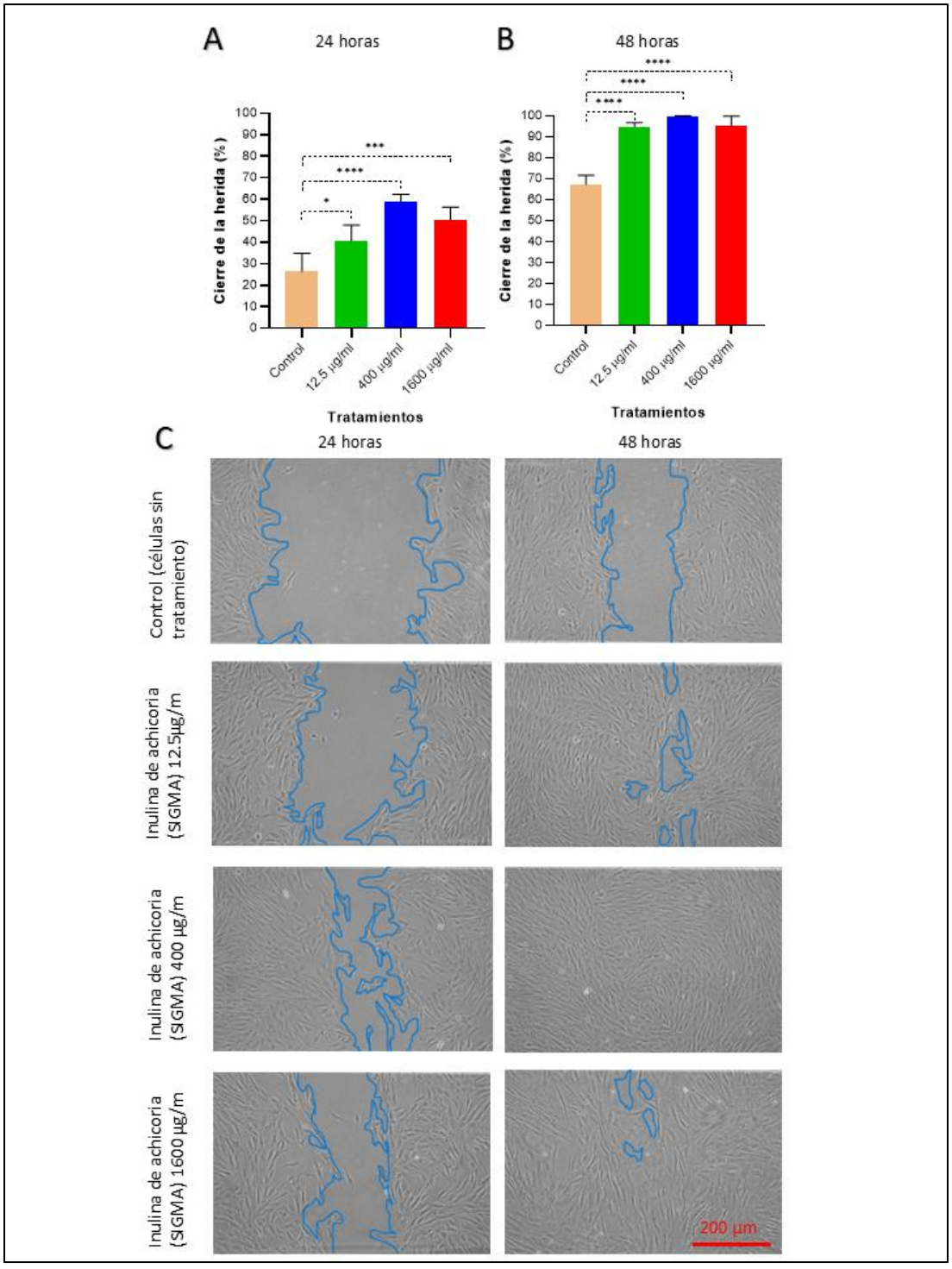


Figura 11. Efecto de la inulina de achicoria (SIGMA) en el cierre de herida por migración celular en fibroblastos. Porcentaje de cierre de herida a dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml a las 24 (A) y 48 horas (B). Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguida de la prueba post hoc de Dunnett. Significancia estadística $p>0.05$ (ns), $p< 0.05$(*), $p< 0.01$(**), $p < 0.001$(***), $p < 0.0001$(****). (C) Microfotografías del efecto de las tres dosis sobre la migración celular en queratinocitos, a concentraciones de 12.5, 400 y 1600 µg/ml y control. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X) a las 24 y 48 horas

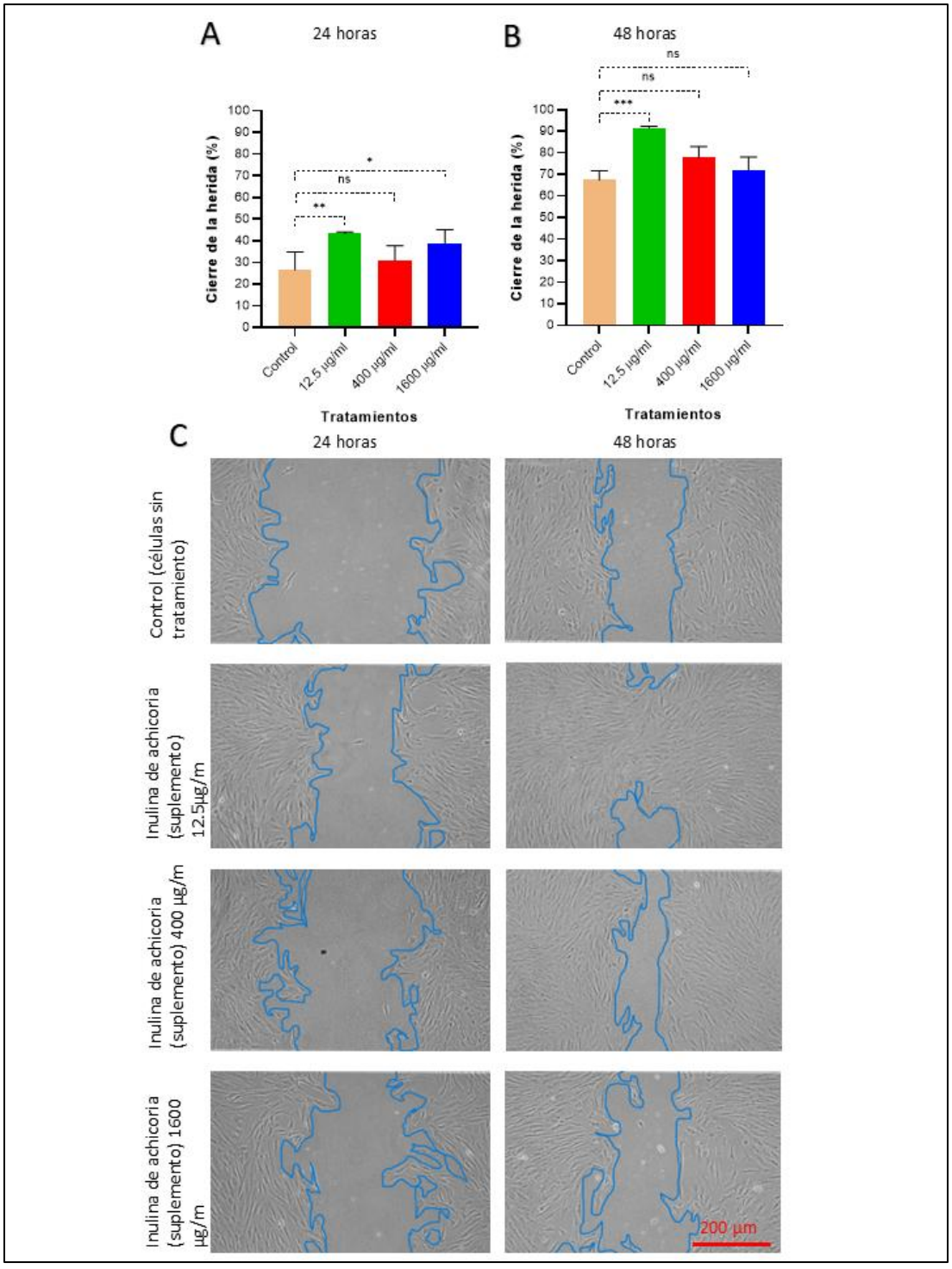


Figura 12. Efecto de la inulina de achicoria (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en fibroblastos. Porcentaje de cierre de herida a dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml a las 24 (A) y 48 horas (B). Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguida de la prueba post hoc de Dunnett. Significancia estadística $p>0.05$ (ns), $p< 0.05$(*), $p< 0.01$(**), $p < 0.001$(***), $p < 0.0001$(****). (C) Microfotografías del efecto de las tres dosis sobre la migración celular en queratinocitos, a concentraciones de 12.5, 400 y 1600 µg/ml y control. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X) a las 24 y 48 horas

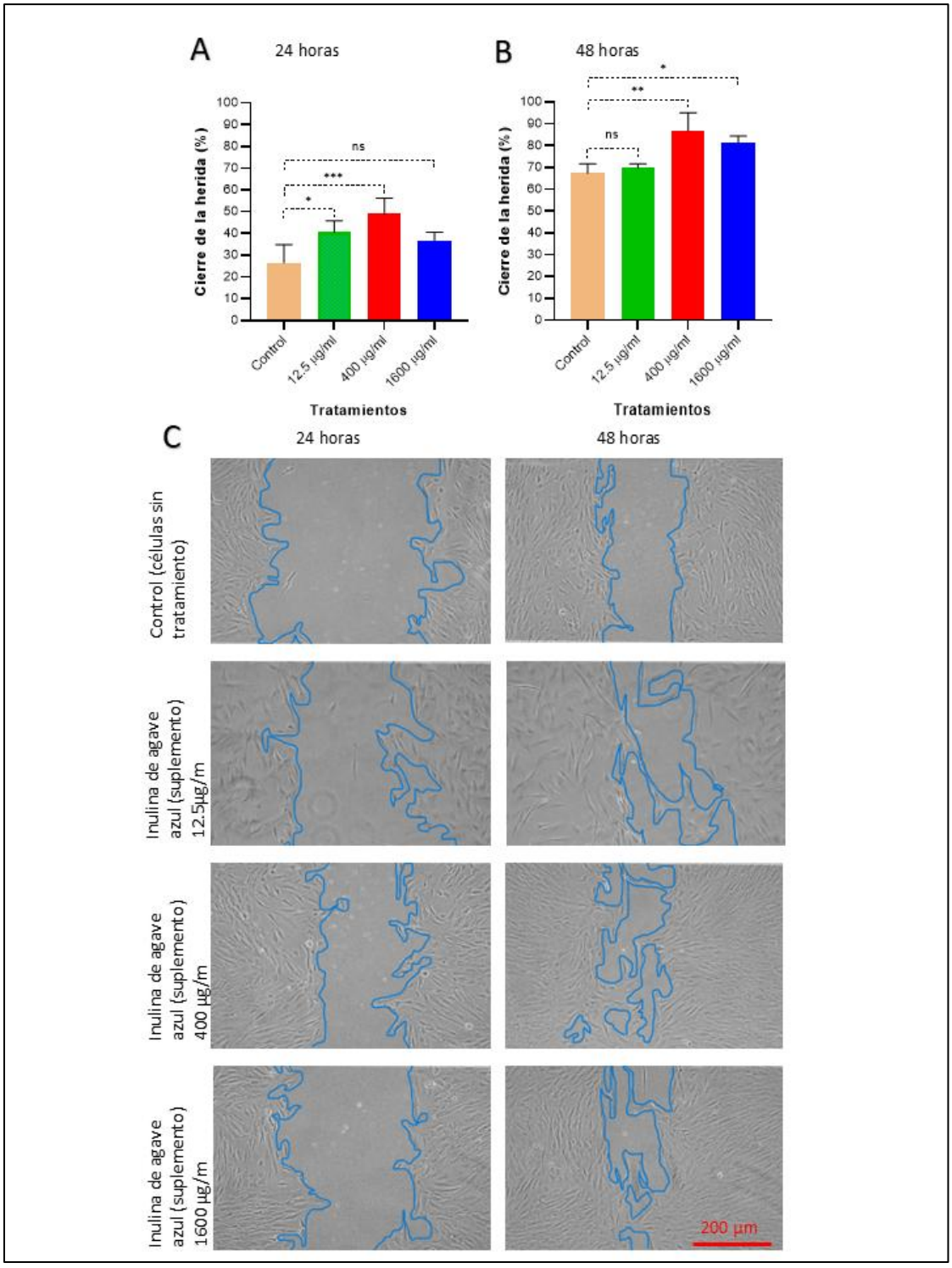


Figura 13. Efecto de la inulina de agave azul (suplemento) en el cierre de herida por migración celular en fibroblastos. Porcentaje de cierre de herida a dosis de 12.5, 400 y 1600 µg/ml a las 24 (A) y 48 horas (B). Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis realizado mediane ANOVA de dos vías seguida de la prueba post hoc de Dunnett. Significancia estadística p>0.05 (ns), p< 0.05(*), p< 0.01(**), p < 0.001(***), p < 0.0001(****). (C) Microfotografías del efecto de las tres dosis sobre la migración celular en queratinocitos, a concentraciones de 12.5, 400 y 1600 µg/ml y control. Las imágenes se obtuvieron en microscopio invertido (10X) a las 24 y 48 horas

consistente con los datos cuantitativos, la dosis de 400 µg/ml muestra un mejor cierre de herida por migración celular en fibroblastos.

Tabla 3. Comparación del porcentaje de cierre de herida por migración celular en fibroblastos tratados con inulinas a las 24 y 48 horas.

Tratamiento	Dosis (µg/ml)	Porcentaje de cierre de herida a las 24 horas (media ± DE)	p vs Control	Porcentaje de cierre de herida a las 48 horas (media ± DE)	p vs Control
Control (células sin tratamiento)	-	26.540 ±8.328	-	67.338 ±4.330	-
Inulina de achicoria (SIGMA)	12.5	40.689 ±7.234	0.0124*	94.838 ±1.943	<0.0001****
	400	58.600 ±3.669	<0.0001****	99.424 ± 0.518	<0.0001****
	1600	50.498 ±5.887	0.0001***	95.077 ±4.750	<0.0001****
Inulina de achicoria (suplemento)	12.5	43.365 ±0.690	0.0049**	91.434 ±0.927	0.0002***
	400	31.020 ±6.679	0.6981^{ns}	77.725 ±5.199	0.0958^{ns}
	1600	38.945 ±6.215	0.0390*	71.837 ±6.168	0.6954^{ns}
Inulina de agave azul (suplemento)	12.5	40.515 ±5.270	0.0279*	69.728 ±1.859	0.9454^{ns}
	400	48.951 ±7.270	0.0007***	86.800 ±8.336	0.0025**
	1600	36.509 ±4.123	0.1463^{ns}	81.172 ±3.204	0.0296*

Los datos se expresan como media ± desviación estándar (DE). Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Dunnett, comparando cada tratamiento contra el control (células sin tratamiento). Significancia estadística p>0.05 (ns), p< 0.05(*), p< 0.01(**), p < 0.001(***), p < 0.0001(****).

En la comparación del efecto de las tres inulinas evaluadas sobre la migración de fibroblastos, (Tabla 3), de manera general se evidencia que al igual que en la línea celular de queratinocitos, todos los tratamientos mostraron porcentajes de cierre superiores al control en los dos tiempos evaluados, lo que confirma el efecto inductor de la migración celular de dichas inulinas. Así como el avance temporal del proceso de migración celular en casi todos los tratamientos con un porcentaje de cierre de herida mayor a las 48 respecto a las 24 horas. De manera comparativa, la inulina de achicoria (SIGMA) fue la que mostró el efecto más marcado sobre la migración de fibroblastos, ya que presentó una respuesta consistente en todas las concentraciones evaluadas y alcanzó los mayores porcentajes de cierre de herida, de casi 100 % a las 48 horas, mostrando así una alta capacidad para favorecer el cierre de herida. Sin embargo, la inulina de achicoria y agave azul presentaron resultados más variables, con porcentajes de cierre de herida por migración celular menores a los de la inulina de achicoria (SIGMA), aunque si mayores respecto al

control. En el caso de inulina de achicoria (suplemento) la menor dosis mostró mejores resultados, y para la inulina de agave azul la dosis intermedia, no evidenciándose una relación directa entre el incremento de la concentración y el porcentaje de cierre de herida, observándose una respuesta más heterogénea entre las dosis evaluadas.

6.5 Cinética de cicatrización en modelo murino

Se evaluó el efecto cicatrizante de las tres inulinas: inulina de achicoria (SIGMA), inulina de achicoria (suplemento) e inulina de agave azul en el modelo murino. Los tratamientos se aplicaron por vía tópica en una dosis de 10 µl de una solución a 5 mg/ml, los días 0, 1 y 3 posteriores a la inducción de la herida. Se utilizaron como controles: negativo (agua destilada) y positivo (Pirfenidona 5mg/ml). Durante el seguimiento fotográfico del proceso de cicatrización (Figura 14), mediante un

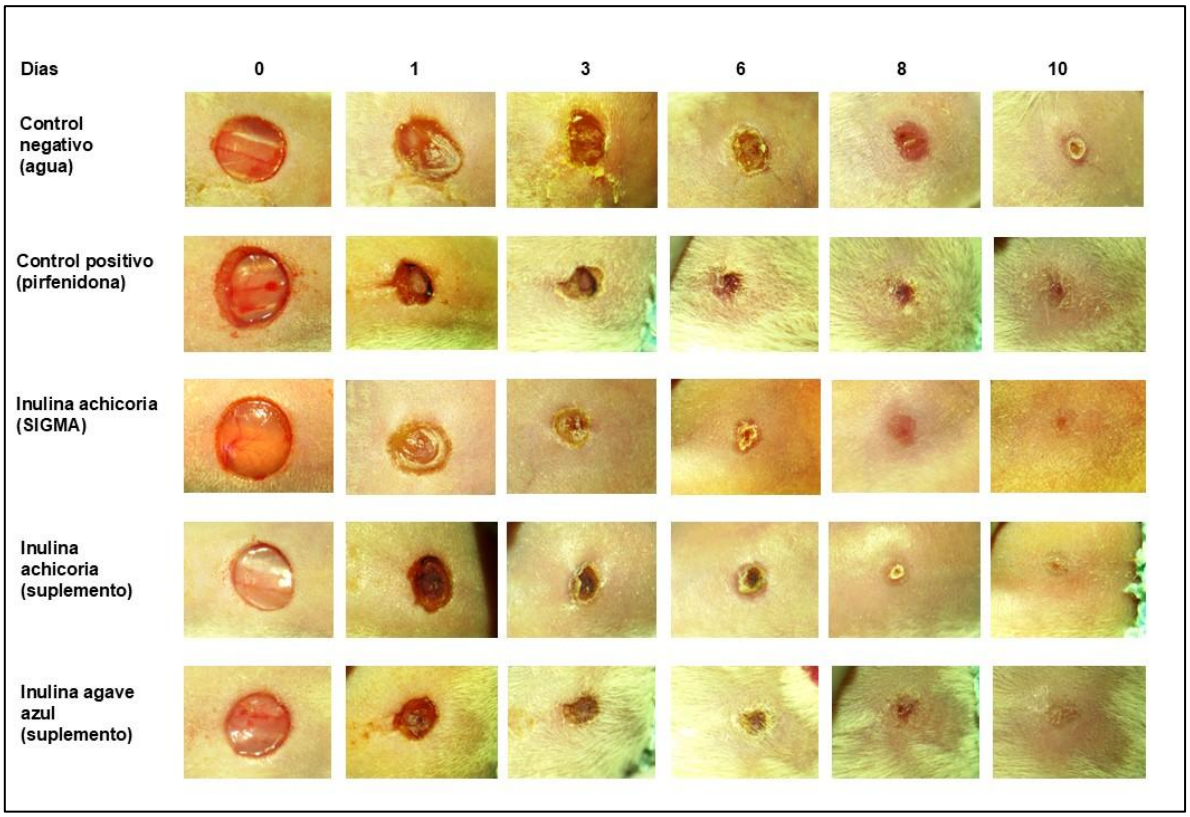


Figura 14. Registro fotográfico del proceso de cicatrización en los grupos experimentales (control negativo, control positivo e inulinas) en los días 0, 1, 3, 6, 8 y 10 posteriores a la inducción de la herida. Las imágenes fueron observadas con un microscopio estereoscópico VELAB VE-S5 a una distancia fija de 100 mm y con un zoom de 2x. La captura y visualización de las imágenes se realizó mediante el software AmScope.

análisis cualitativo se observó una reducción progresiva del área de la herida en los grupos tratados con las inulinas, similar a la observada con el grupo control positivo, mientras que el grupo control negativo (agua) mostró un retraso evidente en el cierre de la herida.

En el análisis cuantitativo de la cinética de cierre de la herida realizado mediante ANOVA de dos vías mostró que el tiempo fue el principal determinante del cierre de la herida con un porcentaje total de variación de 93.08 % (p< 0.0001****). También se logró observar un efecto significativo del tratamiento (p< 0.0001****) y una interacción entre el tiempo y el tratamiento significativo (p= 0.0117 *), por tanto, el efecto de los tratamientos dependió del día de evaluación.

En los días 1 y 3, los tratamientos con las tres inulinas mostraron un cierre significativamente mayor respecto al control negativo (agua), inulina achicoria (SIGMA) día 1 p= 0.0002** y día 3 p=0.0013**, inulina achicoria (suplemento) día 1 p< 0.0002*** y día 3 p= 0.0019**, inulina agave azul día 1 p< 0.0001**** y día 3 p= 0.0007***. Mientras que respecto al control positivo el día 1 y 3 no mostraron diferencia estadísticamente significativas, lo cual indica que presentaron un efecto muy similar. (Figura 15A)

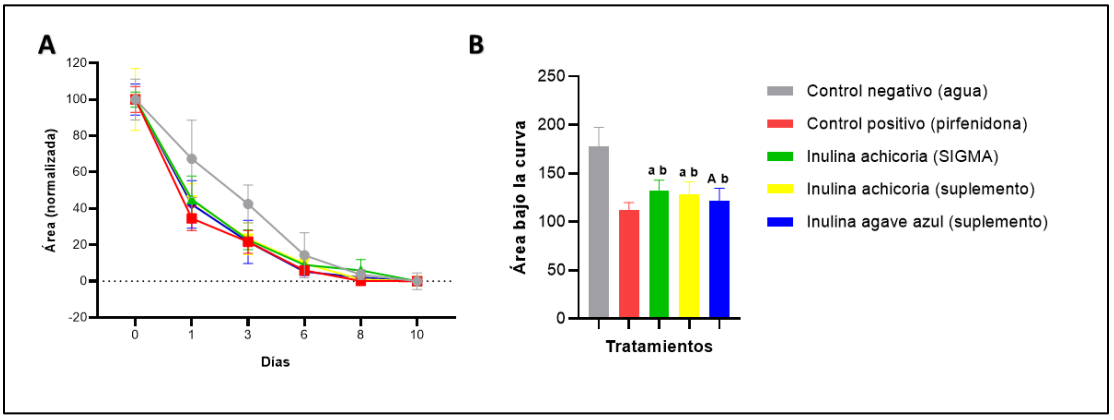


Figura 15. Cicatrización en modelo murino. A. Curva de cinética de cicatrización normalizada a los 0, 1 y cada tercer día. B. AUC para controles y tratamiento. Los datos se presentan como media ± DE (A) y ± EE (B). Análisis realizado mediante ANOVA de dos vías seguida de la prueba post hoc de Dunnett. Significancia estadística, letras minúsculas para cuando no hay diferencias, y letras mayúsculas para cuando hay diferencias. aA para control negativo y bB para control positivo

Sin embargo, a partir del día 6 y días siguientes las diferencias entre los grupos, respecto a ambos controles, e incluso entre control negativo y positivo,

disminuyeron progresivamente no encontrándose diferencias estadísticamente significativas en estos tiempos. Estos resultados indican que el efecto de las inulinas es más notable o alcanza significancia en las etapas tempranas de la cicatrización, acelerando el cierre inicial de la herida de forma similar al control positivo.

El análisis del AUC mostró diferencias significativas entre los tratamientos (p= 0.0249*) mediante ANOVA de una vía. Las comparaciones múltiples de Dunnett indicó que respecto al control positivo (pirfenidona) ninguno de los tratamientos con inulinas mostró diferencias significativas (p> 0.05 en las tres inulinas), mientras que respecto al control negativo (agua) solo la inulina de agave azul presento diferencias estadísticamente significativas (p= 0.0266*). De forma global el control positivo (pirfenidona) reduce significativamente el AUC respecto al control negativo (p= 0.0950**). Estos resultados indican que de forma general las tres inulinas presentan efectos similares al control positivo y diferente al control negativo. (Figura 15)

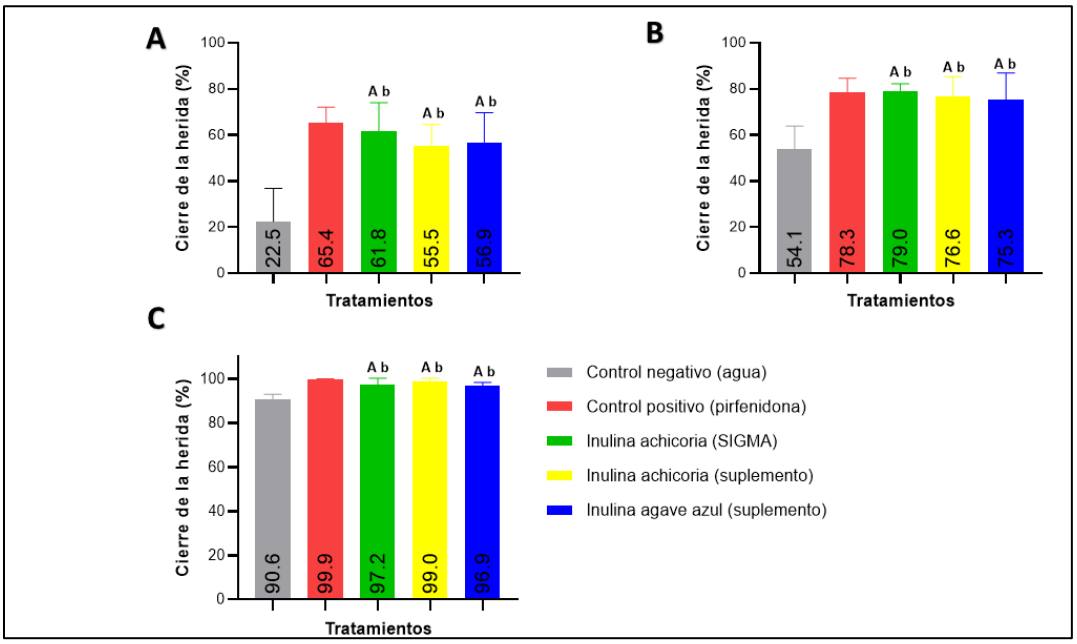


Figura 16. Porcentaje de cierre de heridas al día 1 (A), día 3 (B) y día 8 (C) de controles e inulinas. Los datos se presentan como media ± DE

El análisis del porcentaje de cierre de la herida reveló diferencias claras entre los grupos corroborando los datos anteriormente mencionados. En el día 1 (Figura 16A) el control negativo (agua) presentó un cierre menor 22.46 %, mientras que el control

positivo (pirfenidona) mostró un cierre considerablemente mayor 65.43 %. Los tratamientos con inulina presentaron un desempeño intermedio pero superior al control negativo, inulina achicoria (SIGMA) 61.83 %, inulina achicoria (suplemento) 55.51 % e inulina agave azul 56.87 %, sugiriendo un efecto temprano en el cierre. En el día 3 (Figura 16B) los grupos tratados con inulina mostraron un avance más evidente inulina achicoria (SIGMA) 79.03 %, inulina achicoria (suplemento) 78.11 % e inulina agave azul 75.30 %, todos superiores al control negativo 54.09 % y cercanos al control positivo (pirfenidona) 78.34 %. Para el día 8 (Figura 16C), todos los grupos mostraron cierres prácticamente completos superiores al 95 %, a excepción del control negativo que estuvo ligeramente por debajo con 90.58 %.

7. DISCUSIÓN

Los hallazgos obtenidos en esta investigación demuestran que las inulinas evaluadas sugieren un potencial cicatrizante relevante, tanto en los modelos celulares, como murinos empleados, resaltando su relevancia como posible alternativa natural a los tratamientos convencionales. De manera general, los resultados indican que dichas inulinas no presentan efectos citotóxicos, estimulan la viabilidad y migración celular, y favorecen el cierre de heridas.

En las líneas celulares de fibroblastos y queratinocitos, la viabilidad celular analizada por ensayo de MTT se mantuvo e incluso se incrementó principalmente en queratinocitos, por encima del 100% de viabilidad celular en comparación con el control basal. Por tanto, dichas inulinas en las concentraciones evaluadas se consideran no citotóxicas, de acuerdo a la normativa internacional ISO10993-5:2009, que estipula como citotoxicidad una reducción de la viabilidad celular superior al 30 % (viabilidad celular < 70%) en comparación con un control no tratado.[78,79] Estos resultados sugieren que en presencia de inulina las células aumentan su actividad metabólica, considerando que el ensayo de MTT se basa en la reducción de sales de tetrazolio por enzimas mitocondriales, otros organelos y biomoléculas, presentes en las células que se encuentren metabólicamente activas[80,81].No obstante, al tratarse de un método indirecto este aumento puede reflejar tanto un incremento en el metabolismo como en la proliferación celular.

Afines a estos hallazgos está lo reportado por Duda *et al.* (2025)[82] quienes evaluaron el efecto citotóxico de 3 extractos de *Cichorium intybus L.* y de inulina pura como control mediante el método de MTT en la línea celular L929 (fibroblastos murinos). En esta investigación la inulina reportó un valor de IC_{50} considerablemente alto de 19.77 mg/ml en comparación con el resto de los extractos evaluados (4.72 - 7.31 mg/ml), mostrando un menor efecto citotóxico. Los autores resaltan que la presencia de inulina en los extractos evaluados no contribuía a la disminución de la viabilidad celular, más bien la citotoxicidad de los extractos estaba dada por la presencia de polifenoles y derivados fenólicos presentes. Estos datos respaldan que la inulina presenta muy baja citotoxicidad en esta investigación ya que se necesitó una dosis considerablemente mayor respecto a la dosis máxima de nuestra investigación, para

reducir la viabilidad celular al 50 %. Chen, Y et al (2025)[83] también utilizaron inulina de achicoria como control evaluando dosis que fueron de 1 a 1000 µg/ml en células L929 obteniendo una viabilidad celular de entre 90 a 100% entre todas las dosis evaluadas, resultados que concuerdan con la presente investigación.

Algunas investigaciones recientes han evaluado la biocompatibilidad de la inulina añadida en biomateriales. Una película sostenible diseñada por Parin FN et al (2023)[76] a base de alcohol polivinílico combinado con inulina y otros compuestos bioactivos, no mostraron efectos citotóxicos significativos en fibroblastos murinos NIH3T3, con valores de viabilidad superiores a 85% y cercanos al 100% en caso de las películas con inulina sin adición de otros biomateriales. En el ensayo de LDH, importante marcador de daño celular, la película con inulina revelo que la LHD liberada por células dañadas fue inferior al 3.5%, corroborándose así la permanencia de la integridad de la membrana y ausencia de muerte celular en presencia de este fructano. La inulina también se ha empleado como matriz en sistemas nanoestructurados, Ayala-Fuentes JC et al (2022)[84] observaron niveles de viabilidad celular de entre 75 a 100% en fibroblastos HDFa con inulina de agave de forma independiente y como nanopartículas no cargadas (dosis de 0.134 a 4.3 µg/ml); en células tumorales intestinales Caco-2 y hepáticas HepG2 tampoco presentó citotoxicidad, incluso incrementó la viabilidad celular por encima del 100%. Curiosamente en este mismo estudio, la viabilidad celular de macrófagos RAW 264.7 no se vio afectada por la adición de inulina de agave. Los macrófagos son células que secretan citocinas proangiogénicas y permiten la transición de la fase inflamatoria a la fase proliferativa con la producción de moléculas de señalización que activan queratinocitos, fibroblastos y células endoteliales, fundamentales en el proceso de reparación tisular.[85] Además, la inulina fue capaz de incrementar la producción de óxido nítrico, con niveles dos veces superiores al control en la dosis máxima. En este sentido, se resalta la capacidad inmunomoduladora de la inulina disminuyendo el estrés oxidativo siendo esta una de las vías por las cuales se puede disminuir el daño o la muerte celular y por ende no afectar la viabilidad celular en condiciones *in vitro*.

Un polímero de fructano muy similar a la inulina extraído del ajo también tuvo la capacidad de mantener e incluso incrementar la viabilidad celular de queratinocitos HaCaT, así como de disminuir el porcentaje de células en fase sub G1 protegiendo a las células de muerte celular por apoptosis ante el daño inducido por radiación ultravioleta.[86] Este efecto citoprotector pudiera ser otra causa por la cual la viabilidad celular no se ve afectada, mediante la preservación del material genómico celular y modulación de las vías apoptóticas.

Sin embargo, el aumento de la viabilidad celular también pudiera estar justificada por la capacidad de la inulina para regular importantes proteínas del ciclo celular, como la ciclina D2 proteína que impulsa la transición de la fase G1 a la fase S y PAK3 que interviene en procesos de plasticidad celular, esto si se considera a Zhang QY et al (2024)[87] quienes, aunque trabajaron en un modelo *in vivo*, analizaron el efecto de la inulina sobre enterocitos previamente dañados. Estos efectos han sido relacionados con la modulación de la vía MAPK, ruta de señalización, proliferación, diferenciación y supervivencia celular. De acuerdo a Zhang QY et al (2024)[88] la inulina también activa la vía PI3K/AKT/mTOR, crucial para la motilidad, el crecimiento, la supervivencia y el metabolismo celular, ya que aumentó la expresión de proteínas como Wnt1, β-catenina, PI3K, Akt3 y p62. En conjuntos todos estos mecanismos pudieran explicar el mantenimiento o bien el aumento de la viabilidad celular de fibroblastos y queratinocitos respectivamente, en presencia de inulina.

Si bien la presencia y proliferación celular de fibroblastos y queratinocitos son importantes en el proceso de reparación tisular, la migración de estos juega un papel fundamental. La migración celular es un proceso que implica una alta coordinación, dependiente de cambios moleculares y estructurales como la reorganización activa del citoesqueleto de actina y de las interacciones entre las células y la matriz extracelular, pasos claves en la fase proliferativa de la cicatrización.[89] Los fibroblastos como reguladores centrales de la reparación cutánea migran al lecho de la herida no solo generando fuerzas contráctiles tempranas sino también entregando parches de matriz extracelular preensamblados que aceleran el cierre

de la heridas, dependiente de moléculas de adhesión y comunicación célula-célula como la N-cadherina, fibronectina y la conexina 43.[90-91] Los queratinocitos en el borde la herida migra para llevar a cabo la reepitelización y así restaurar la barrera epidérmica. Esto, facilitado por factores de crecimiento como EGF y KGF, así como por la adhesión mediada por lamininas e integrinas a los componente de la MEC.[85,90-91] La presencia de inulina pareciera estar favoreciendo algunos de estos mecanismo que intervienen en la migración celular de las líneas celulares evaluadas, considerando el incremento del cierre de heridas por migración evaluados en la presente investigación.

De forma comparativa los resultados obtenidos mostraron que la inulina de achicoria (SIGMA) y de agave azul, presentaron una tendencia dependiente de la concentración, sugiriendo una relación dosis-respuesta en la estimulación de la migración celular. Sin embargo, la inulina de achicoria (suplemento) mostró un comportamiento no lineal, donde concentraciones mayores no se tradujeron en un incremento proporcional en el cierre de la herida. Este comportamiento pudiera estar justificado por variaciones en características como el grado de polimerización y de hidrolisis que pudieran influir en el comportamiento celular. Tal como lo reporta Amin Z et al 2017[92] que observaron que hidrolizados de almidón con menor grado de hidrólisis y de equivalentes de dextrosa presentaron mayor capacidad para promover el cierre de heridas en fibroblastos NIH3T3, en comparación con los de mayores grados. Este comportamiento no lineal de algunas de las altas concentraciones también pudiera explicarse por la activación de mecanismos de retroalimentación negativa en las vías de señalización implicadas en el proceso de migración celular, en la que a concentraciones mayores no necesariamente existe una mayor respuesta celular. Esto se puede atribuir a una respuesta hormética, un comportamiento ampliamente descrito en estudios *in vitro* de cicatrización que han utilizado fibroblastos y queratinocitos tratados con compuestos bioactivos y productos naturales, la hormesis respalda respuestas bifásicas,una estimulación a dosis/concentraciones bajas y una inhibición a dosis/concentraciones altas. [93-94]

Al igual que la presente investigación, otros modelos *in vitro* también han reportado un mayor aumento del cierre de herida en fibroblastos en comparación con los queratinocitos. Walter *et al* (2010) [95] observaron en el ensayo de raspado celular en fibroblastos L929 y queratinocitos HaCaT, que los fibroblastos alcanzaban un 49% de cierre de herida y los queratinocitos apenas el 12% a las 12 horas, esto en presencia de medio condicionado de células madre mesenquimales. Incluso en condiciones de cocultivo los fibroblastos fueron los primeros en migrar al área de la "herida", llenar la misma y excluir a los queratinocitos. La migración celular constituye uno de los eventos limitantes en el proceso de cicatrización, y la alta capacidad migratoria de los fibroblastos coincide con la cronología de la reparación tisular en la que células endoteliales microvasculares y fibroblastos son los primeros en migrar al sitio de la lesión para luego detenerse y dar paso a la reepitelización de queratinocitos.

La presencia de inulina oxidada en un andamio de colágeno y nanopartículas de dióxido de zirconio fue capaz de promover aproximadamente el 60% de cierre de herida en un ensayo de migración celular por raspado a las 24 horas, en células madre mesenquimales murinas; sirviendo como evidencia indirecta del efecto de la inulina oxidada en el desarrollo de biomateriales para su aplicación en la ingeniería de tejidos.[96]

La inulina pudiera presentar efectos análogos a los reportados en otros polisacáridos con efectos promigratorios. El acemanano, un polisacárido extraído de *Aloe vera*, incrementó la migración celular de queratinocitos con cierres de herida entre 60 a 80% en dosis de 1 y 3 mg/ml, esto, debido a la activación de la vía de señalización AKT/mTOR mediante la activación del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR), así como a través de la activación de vías asociadas a Proteína Quinasa C y a Factor Nuclear kappa B, proteínas intervinientes en la señalización y migración celular.[97] La combinación de nanofibras de polisacáridos derivados de celulosa y quitina también han promovido la migración de fibroblastos de ratón NIH3T3 con un cierre de herida de 78,1% a las 24 horas [98]; al igual que el hidrogel de polisacáridos de *Bletilla striata* que en células L929 indujo

cierres de herida de casi 100% por migración celular a las 48 horas.[99] Veeraperumal et al. (2020)[100] demostraron que un polisacárido de *Gracilaria lemaneiformis* incrementó la migración de queratinocitos HaCaT mediante la polaridad celular a través de la orientación del aparato de Golgi y la regulación positiva de las proteínas Par3 y aPKC; además de la regulación de la direccionalidad celular a través del aumento de la expresión génica de Cdc42 que permitió la formación de lamelipodios en el borde de avance de las células. En este sentido los polisacáridos no solo actúan como moléculas capaces de activar vías intracelulares, sino que también pueden modificar el microambiente extracelular y favorecer las condiciones de migración celular. A pesar de que los mecanismos directos asociados a la inulina no se evaluaron en la presente investigación y considerando que tampoco existen antecedentes sobre la influencia de la misma sobre la migración celular, es posible estimar que en cierta medida pudiera ejercer efectos análogos a los anteriormente citados debido a sus propiedades estructurales y bioactivas compartidas con estos polisacáridos.

Finalmente, la aplicación tópica de las inulinas promovió una disminución progresiva del área de las heridas respecto al control negativo durante la cinética de cicatrización de heridas inducidas en el modelo murino. Esto confirma que el efecto de la inulina observado previamente en el aumento de la viabilidad y migración celular, también se manifestó en un sistema biológico completo y complejo, en el que confluyen procesos bioquímicos, moleculares y celular de la reparación tisular *in vivo*. Desde este punto de vista, la respuesta observada en el modelo murino complementa los resultados obtenidos en los ensayos *in vitro*, ya que la cicatrización no depende solo de la actividad de queratinocitos y fibroblastos y procesos biomoleculares implicados, sino también de las características físicas y químicas del microambiente que se establece en el sitio de la lesión.

Particularmente, la inulina de agave azul fue la que mostró el mayor cierre de herida durante la evaluación *in vivo* en comparación con las inulinas de achicoria. Aunque en el presente estudio no se realizó una evaluación del perfil estructural de las tres inulinas, es importante resaltar que la inulina no constituye una estructura molecular

única y homogénea, sino, que es un fructano constituido principalmente por monómeros de fructosa cuyas estructuras moleculares dadas por el grado de polimerización, la distribución de las cadenas y la presencia de ramificaciones, también van a variar en función de aspectos como el origen botánico, el estado y ciclo de vida de la especie vegetal, y las condiciones empleadas en los proceso de cosecha, extracción y purificación.[70,101,102] Mientras que la inulina de achicoria está formada por cadenas lineales de fructosa unidas por enlaces β(2-1), la inulina de agave presentan una arquitectura más compleja, con enlaces β(2-1) y β(2-6), que pueden originar estructuras ramificadas y fructanos de tipo mixto y de neoinulinas.[71,103] Por tanto el mejor desempeño observado en la inulina de agave podría estar relacionado con estas diferencias estructurales y consecuentemente con las propiedades fisicoquímicas que adquiere una vez aplicado sobre la superficie de la herida. Las diferencias en la topología de las cadenas pueden modificar la forma en que las moléculas se organizan entre sí y cómo interactúan con componentes presentes en la reparación tisular.[104]

Los polisacáridos tienen como propiedad que favorecen la hidratación y permiten crear entornos húmedos adecuados para la reparación tisular, esto gracias a que contienen una gran cantidad de grupos hidroxilo y carboxilo que atraen y retienen el agua; lo que constituye uno de los principios en el diseño de biomateriales y andamios para heridas diseñados a partir de polisacáridos.[105] El ambiente húmedo en las heridas ofrece múltiples beneficios que aceleran y mejoran la calidad de la cicatrización; la exhaustiva revisión de Nuutila K y Eriksson E (2021)[106] respaldan que el entorno húmedo de la herida favorece la comunicación y señalización intercelular para reparar ordenadamente la pérdida de tejido, permiten la migración y reepitelización más eficiente de queratinocitos y células epiteliales, además de estimular la síntesis de colágeno por fibroblastos, disminuir la inflamación y promover autólisis del tejido necrótico con menor formación de cicatriz. En este contexto, la inulina también presenta en su superficie grupos funcionales hidroxilo que facilitan la absorción de moléculas de agua.[102,107] Esta capacidad higroscópica de la misma, que favorece la humedad de la herida, explica en parte su capacidad para acelerar la cicatrización. De acuerdo con Leyva-Porras C *et al* (2015)[107,] las

inulinas con un mayor grado de polimerización son capaces de absorber una mayor cantidad de agua. Si bien este planteamiento no concuerda del todo con nuestros resultados donde la inulina de agave mostró mejor cicatrización respecto a la de achicoria, pese a que esta última presumiblemente debería presenta un mayor grado de polimerización, pues no deja de ser un factor influyente que ayuda a explicar por qué las tres inulinas evaluadas favorecieron la cicatrización en nuestro modelo murino.

Además de la capacidad higroscópica de la inulina, su posible función como andamio o matriz provisional resulta interesante si se consideran sus propiedades fisicoquímicas. Teniendo en cuenta que desde un punto de vista funcional cuando nos referimos a un andamio no solo nos limitamos a estructuras tridimensionales preformadas, como por ejemplo los hidrogeles, sino también a una matriz provisional como estructura temporal que aparece después de la lesión y que posteriormente es degradada y reemplazada, que proporciona un entorno físico que favorece la migración, adhesión y proliferación celular mientras se reestablece el tejido reparado. [108,109] La inulina es un polímero versátil, motivo por el cual se ha comenzado a emplear en la administración de fármacos,[110] dicha versatilidad se atribuye a la flexibilidad de su cadena principal, esta flexibilidad se relaciona con la ausencia de anillos rígidos en la cadena que le permite una mayor libertad de movimiento; además la presencia de unidades de furanosa en su estructura le confieren una arquitectura adaptable capaz de formar arreglos poliméricos y reducir el impedimento estérico frente a otras macromoléculas y por ende interactuar con componentes de membranas celulares.[110,111,112] Diversos estudios recopilados en la revisión de Mensink MA *et al* (2015)[111] demostraron que estas propiedades de flexibilidad de la cadena y conformación molecular de los fructanos e inulinas pueden interactuar directamente con bicapas lipídicas y modificar su organización estructural en sistemas biomiméticos. En esta misma investigación también se describe la denominada “Teoría de la sustitución de agua” de la inulina que plantea que cuando disminuye la disponibilidad de agua, la inulina puede establecer interacciones mediante puentes de hidrogeno con las superficie de las, estabilizando y preservando su estructura.[111,112] Aunque estos mecanismos no se

estudiaron directamente en condiciones o procesos de cicatrización celular, si pudieran ser extrapolables, manifestando la capacidad de la inulina para establecer relaciones fisicoquímicas con biomoléculas a nivel celular y tisular. En el contexto de la herida estas propiedades junto a la capacidad higroscópica y flexibilidad molecular podrían estar contribuyendo a generar la interfaz temporal entre la inulina y el tejido lesionado favoreciendo la hemostasia, proliferación, reepitelizacion y remodelado en la cicatrización.

La caracterización de las diferencias estructurales entre las inulinas de agave y achicoria permitiría entender de mejor manera las diferencias reales observadas en la cicatrización. Sería entonces de interés evaluar si la presencia o no de enlaces β (2→6) y ramificaciones en la inulina de agave presenta una mayor capacidad para retener agua, formar estructuras poliméricas o interactuar con proteínas de la matriz extracelular, ya que con estos parámetros se establecería una relación más directa entre su diseño molecular y el mejor cierre de la herida observado en este estudio.

El uso de otros polisacáridos, como el quitosano, alginato, dextrano, ácido hialurónico y celulosa, como componentes de biomateriales, en hidrogeles, películas, esponjas, espumas o apósitos, para la reparación tisular, han demostrado la capacidad de estos polímeros para incentivar la cicatrización.[113,114] Sin embargo, la evidencia disponible para estos materiales ha señalado ciertas limitaciones, entre ellas resistencia mecánica débil, bioactividad limitada, problemas de estabilidad y reproducibilidad, y desafíos regulatorios.[113] Mientras que el potencial de la inulina tópica como componente capaz de favorecer los procesos moleculares, bioquímicos y celulares han sido poco explorados; en este sentido nuestros resultados aportan evidencia inicial para el desarrollo de biomateriales cicatrizantes a partir de inulina.

8. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el ensayo de viabilidad celular demostraron que las inulinas no presentaron efectos citotóxicos en queratinocitos ni fibroblastos en las diferentes concentraciones evaluadas, respaldando la compatibilidad celular de las mismas. El cierre de herida en el modelo *in vitro,* por migración celular de queratinocitos y fibroblastos se vio favorecido en presencia de inulina, sin embargo, este efecto dependió del tipo de inulina, de la concentración y la línea celular evaluada, sin observarse una relación dosis-respuesta uniforme entre los tratamientos.En el modelo murino la administración tópica de inulina favoreció el cierre de herida evidenciando su actividad cicatrizante *in vivo*, respaldando los efectos observados en los modelos celulares.

9. PERSPECTIVAS

La biocompatibilidad, capacidad de favorecer la migración celular y posible función como andamio biológico de la inulina constituyen una base experimental para futuras investigaciones sobre su posible incorporación para el desarrollo de biomateriales destinados al tratamiento de heridas, particularmente en pacientes con diabetes mellitus.

Los resultados obtenidos en este estudio resaltan el potencial terapéutico de la inulina en la cicatrización de heridas, sin embargo, surge como pregunta, ¿Cuáles serán los mecanismos de acción implicados en el efecto cicatrizante de la inulina? Por lo cual sería oportuno la evaluación de la expresión génica y de proteínas implícitas en el aumento de la proliferación y migración celular. Así como la realización de cortes histológicos de piel a diferentes tiempo en los ratones tratados con inulina, para realizar pruebas histoquímicas e inmunohistoquímicas, ya que aportaría información muy valiosa sobre los cambios en la inflamación, granulación, angiogénesis y reepitelización inducidos por el tratamiento con inulina.

Asimismo, considerando que la Diabetes Mellitus es uno de los principales escenario en los que la cicatrización se encuentra comprometida. Replicar los ensayos de proliferación y migración celular en condiciones de hiperglucemia, estrés oxidativo e inflamación, así como analizar cinéticas de cicatrización en modelos murinos inducidos a diabetes; permitiría determinar en mejor medida la eficacia de la inulina en condiciones fisiopatológicas más complejas y cercanas a esta esta enfermedad.

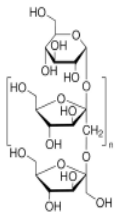
10. ANEXOS

A. Ficha técnica de Inulina de achicoria (SIGMA)

Fabricante	Sigma-Aldrich
Tipo	Inulina de achicoria
Presentación	10 gramos
Lote	0000440942
Costo y fecha de consulta	1752 MX (29/06/2026)
País de origen	Estados Unidos de America
Certificado de análisis	Website: www.sigma-aldrich.com Email USA: techserv@sial.com Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name : **Inulin from chicory**
Product Number : **I2255-10G**
Batch Number : **0000440943**
Source Batch : 0000414344
CAS Number : 9005-80-5
MDL Number : MFCD00131407
Quality Release Date : 01 Apr 2025



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White	White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Colorless	Colorless
Solubility (Turbidity)	Clear to Hazy	Clear
100 mg/mL, H2O		
Water (by Karl Fischer)	≤ 15 %	9 %
Free Glucose	≤ 0.05 %	0.00 %
by enzymatic assay		
Free Fructose	≤ 0.05 %	0.00 %
by enzymatic assay		
Ratio	Conforms	Conforms
Fructose:Glucose (>= 20:1)		

B. Ficha técnica de Inulina de achicoria (suplemento)

<table>
<tr><td>Fabricante</td><td>Ebien</td></tr>
<tr><td>Tipo</td><td>Inulina procedente de la raíz de Achicoria (Cichorium intybus)</td></tr>
<tr><td>Presentación</td><td>500 gramos</td></tr>
<tr><td>Costo y fecha de consulta</td><td>180 MX (29/06/2026)</td></tr>
<tr><td>País de origen</td><td>Querétaro, México</td></tr>
<tr><td>Declaración nutrimental</td><td>
<table>
<tr><td colspan="2">Declaración Nutrimental</td></tr>
<tr><td>Contenido energético</td><td>Por 100g
40kcal (170kJ)</td></tr>
<tr><td>Proteínas</td><td>0g</td></tr>
<tr><td>Grasas totales
Grasa saturada
Grasa trans</td><td>0g
0g
0mg</td></tr>
<tr><td>Hidratos de carbono disponibles
Azúcares
Azúcares añadidos
Polialcoholes</td><td>10g
10g
0g
0g</td></tr>
<tr><td>Fibra Dietética</td><td>87g</td></tr>
<tr><td>Sodio</td><td>0mg</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

C. Ficha técnica de Inulina de Agave azul (suplemento)

Fabricante	NBF Company
Tipo	Inulina de agave azul (Agave tequilana Weber var. azul)
Presentación	300 gramos
Costo y fecha de consulta	140 MX (29/06/2026)
País de origen	Jalisco, México
Declaración nutrimental	

Declaración Nutrimental

Contenido energético por envase	145 kcal (603 kJ)
Tamaño de la Porción	100 g
Contenido energético	32 kcal (134 kJ)
Proteínas	0 g
Grasas Totales	0 g
Grasas saturadas	**0 g**
Grasas trans	**0 mg**
Hidratos de carbono disponibles	8 g
Azúcares	**8 g**
Azúcares añadidos	**0 g**
Fibra dietética	89 g
Sodio	**0 mg**

Ingredientes: Inulina de agave orgánica.

D. Ficha técnica de medio de cultivo celular (DMEM-F12)

Nombre	DMEM (medio Eagle modificado de Dulbecco)/F-12
Fabricante	GIBCO Thermo Fisher Scientific
Presentación	500 ml
Almacenamiento	2 °C a 8 °C
Descripción general	DMEM/F-12 es una mezcla en proporción 1:1 de DMEM y Ham F-12. Esta formulación combina las altas concentraciones de glucosa, aminoácidos y vitaminas de DMEM con la amplia variedad de componentes de F-12. DMEM/F-12 no contiene proteínas, lípidos ni factores de crecimiento. Por lo tanto, el DMEM/F-12 podría requerir una suplementación, normalmente con un 10 % de suero fetal bovino (SFB). El DMEM/F-12 utiliza un sistema de tampones de bicarbonato de sodio y, por lo tanto, requiere un ambiente con un 5–10 % de CO 2 para mantener el pH fisiológico.
Composición	

Components	Molecular Weight	Concentration (mg/L)	mM
Amino Acids			
Glycine	75.0	18.75	0.25
L-Alanine	89.0	4.45	0.049999997
L-Arginine hydrochloride	211.0	147.5	0.69905216
L-Asparagine-H2O	150.0	7.5	0.05
L-Aspartic acid	133.0	6.65	0.05
L-Cysteine hydrochloride-H2O	176.0	17.56	0.09977272
L-Cystine 2HCl	313.0	31.29	0.09996805
L-Glutamic Acid	147.0	7.35	0.05
L-Glutamine	146.0	365.0	2.5
L-Histidine hydrochloride-H2O	210.0	31.48	0.14990476
L-Isoleucine	131.0	54.47	0.41580153
L-Leucine	131.0	59.05	0.45076334
L-Lysine hydrochloride	183.0	91.25	0.4986339
L-Methionine	149.0	17.24	0.11570469
L-Phenylalanine	165.0	35.48	0.2150303
L-Proline	115.0	17.25	0.15
L-Serine	105.0	26.25	0.25
L-Threonine	119.0	53.45	0.44915968
L-Tryptophan	204.0	9.02	0.04421569
L-Tyrosine disodium salt dihydrate	261.0	55.79	0.21375479

L-Valine	117.0	52.85	0.4517094
Vitamins			
Biotin	244.0	0.0035	1.4344263E-5
Choline chloride	140.0	8.98	0.06414285
D-Calcium pantothenate	477.0	2.24	0.0046960167
Folic Acid	441.0	2.65	0.0060090707
Niacinamide	122.0	2.02	0.016557377
Pyridoxine hydrochloride	206.0	2.013	0.009771844
Riboflavin	376.0	0.219	5.824468E-4
Thiamine hydrochloride	337.0	2.17	0.0064391694
Vitamin B12	1355.0	0.68	5.0184503E-4
i-Inositol	180.0	12.6	0.07
Inorganic Salts			
Calcium Chloride (CaCl2) (anhyd.)	111.0	116.6	1.0504504
Cupric sulfate (CuSO4-5H2O)	250.0	0.0013	5.2E-6
Ferric Nitrate (Fe(NO3)3*9H2O)	404.0	0.05	1.2376238E-4
Ferric sulfate (FeSO4-7H2O)	278.0	0.417	0.0015
Magnesium Chloride (anhydrous)	95.0	28.64	0.30147368
Magnesium Sulfate (MgSO4) (anhyd.)	120.0	48.84	0.407
Potassium Chloride (KCl)	75.0	311.8	4.1573334
Sodium Bicarbonate (NaHCO3)	84.0	2438.0	29.02381
Sodium Chloride (NaCl)	58.0	6995.5	120.61207
Sodium Phosphate dibasic (Na2HPO4) anhydrous	142.0	71.02	0.50014085
Sodium Phosphate monobasic (NaH2PO4-H2O)	138.0	62.5	0.45289856
Zinc sulfate (ZnSO4-7H2O)	288.0	0.432	0.0015
Other Components			
D-Glucose (Dextrose)	180.0	3151.0	17.505556
Hypoxanthine Na	159.0	2.39	0.015031448
Linoleic Acid	280.0	0.042	1.4999999E-4
Lipoic Acid	206.0	0.105	5.097087E-4
Phenol Red	376.4	8.1	0.021519661
Putrescine 2HCl	161.0	0.081	5.031056E-4
Sodium Pyruvate	110.0	55.0	0.5
Thymidine	242.0	0.365	0.0015082645

E. Ficha técnica de Pirfenidona

Nombre comercial	KitosCell®
Nombre del principio activo	Pirfenidona
Presentación	10g
Fabricante	Cell Pharma S. de R.L. de C.V.
Pais de origen	México
Registro sanitario	3190C2012 SSA
Forma farmacéutica	Gel tópico
Composición	Pirfenidona 8 g Excipientes cbp 100 g
Indicaciones terapéuticas	Gel auxiliar en la prevención, tratamiento, corrección y restauración de las lesiones de la piel, como en el caso de áreas cruentas, escaldaduras, abrasiones, quemaduras, heridas, cicatrices queloides o hipertróficas, y otros trastornos de la regeneración dérmica
Mecanismo de acción	La pirfenidona actúa como biomodulador selectivo de citocinas y en el contexto de la inflamación tisular produce una inhibición de los efectos del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y de la interleucina 6 (IL-6), logrando con ello disminuir la cronificación de la inflamación y, por tanto, de las lesiones presentes. Adicionalmente, la pirfenidona posee un efecto regulador del factor de crecimiento transformante beta (TGF-β), citocina que modula la activación de fibroblastos, producción de matriz extracelular y colagenasas; su desbalance constituye un factor importante para la presencia de alteraciones en la formación de nuevo tejido y en la remodelación del existente, por lo que la regulación de sus efectos mejora la producción de nuevo tejido de forma fisiológica.
Condición de almacenamiento	Menos de 30 °C
Uso en la investigación	Control positivo en el ensayo *in vivo* de cinética de cicatrización para comparar el efecto de la inulina sobre el cierre de la herida.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Panorama de la diabetes en la Región de las Américas - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. www.paho.org. 2022. Available from: https://www.paho.org/es/documentos/panorama-diabetes-region-americas
2. Russo MP, Grande-Ratti MF, Burgos MA, Molaro AA, Bonella MB. Prevalencia de diabetes, características epidemiológicas y complicaciones vasculares. Archivos de Cardiología de México. 2023 Feb 7;93(1).
3. OPS. Diabetes - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. www.paho.org. 2023. Available from: https://www.paho.org/es/temas/diabetes
4. Datos y cifras [Internet]. Federación Internacional de Diabetes. Available from: https://idf.org/es/about-diabetes/diabetes-facts-figures/
5. Basto-Abreu A, López-Olmedo A, Rojas-Martínez R, Ca AS, Gl MB, Ja R, et al. Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022. Salud Publica Mex [Internet]. 2023;65(1):163–8. Available from: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2022/doctos/analiticos/21-Diabetes-ENSANUT2022-14832-72458-2-10-20230619.pdf
6. Cervantes-Villagrana, R. D., & Presno-Bernal, J. M. (2013). Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. Revista de endocrinología y nutrición, 21(3), 98-106.
7. Brutsaert, Erika. Diabetes mellitus (DM) [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. Manuales MSD; 2019. Available from: https://www.msdmanuals.com/es/professional/trastornos-endocrinol%C3%B3gicos-y-metab%C3%B3licos/diabetes-mellitus-y-trastornos-del-metabolismo-de-los-hidratos-de-carbono/diabetes-mellitus-dm
8. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. International Journal of Molecular Sciences [Internet]. 2020 Aug 30;21(17):1–34. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7503727/
9. Pérez, F. (2009). Epidemiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. Rev. Med. Clin, 565-71.
10. Diabetes tipo 1 | NIDDK [Internet]. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Available from: https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/que-es/diabetes-tipo-1
11. Diabetes tipo 2 - NIDDK [Internet]. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Available from: https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/que-es/diabetes-tipo-2#sintomas

12. Medlineplus. Diabetes : MedlinePlus enciclopedia médica [Internet]. medlineplus.gov. Available from: https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001214.htm
13. Barrera Céspedes, M. C., Rafael Méndez, Y. , Ruiz, M. Ángel, Masmela, K. M., Parada, Y. A., Peña, C. A., Perdomo, C. M., Quintanilla, R. A., Ramírez, A. F., y Villamil, E. S. (2018). Complicaciones Agudas de la Diabetes Mellitus, Visión Práctica para el Médico en Urgencias: Cetoacidosis Diabética, Estado Hiperosmolar e Hipoglucemia. Revista Cuarzo, 24(2), 27–43. Available from: https://doi.org/10.26752/cuarzo.v24.n2.352
14. Humberto E, Esther R, Ivette G, Carballo HH. Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus tipo II en adultos mayores. Revista Información Científica [Internet]. 2018 ;97(3):528–37. Available from: https://revinfcientifica.sld.cu/index.php/ric/article/view/1927
15. Pereira C. N, Suh HP, Hong JP (JP), Pereira C. N, Suh HP, Hong JP (JP). Úlceras del pie diabético: importancia del manejo multidisciplinario y salvataje microquirúrgico de la extremidad. Revista chilena de cirugía [Internet]. 2018 Dec 1;70(6):535–43. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-40262018000600535
16. Díaz-Rodríguez JJ. Aspectos clínicos y fisiopatológicos del pie diabético. Medicina Interna de México [Internet]. 2021 Aug 11;37(4):540–50. Available from: https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=100947
17. Correa CS, I. Briceño, Valencia JJB, M.E. Niño, Robledo J. Prevalencia de reamputación en amputaciones menores del pie en pacientes con pie diabético, estudio de corte transversal. Revista española de cirugía ortopédica y traumatología [Internet]. 2025;69(1):70–6. Available from: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9921883
18. Arias D, Andrés M, Katherine, Patricia G, Santiago D, Andrea K, et al. Update in diagnosis and treatment: bibliographic review. Angiología. 2023 Jan 1;
19. Otsuka T, Kan HM, Laurencin CT. Regenerative Engineering Approaches to Scar-Free Skin Regeneration. Regenerative Engineering and Translational Medicine. 2021 Sep 24;
20. Yousef H, Alhajj M, Sharma S. Anatomy, Skin (Integument), Epidermis [Internet]. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470464/
21. Criollo-Mendoza MS, Contreras-Angulo LA, Leyva-López N, Gutiérrez-Grijalva EP, Jiménez-Ortega LA, Heredia JB. Wound Healing Properties of Natural Products: Mechanisms of Action. Molecules. 2023 Jan 6;28(2):598.
22. Zohreh Arabpour, Abedi F, Salehi M, Seyed Mahbod Baharnoori, Soleimani M, Djalilian AR. Hydrogel-Based Skin Regeneration. International Journal of

Molecular Sciences [Internet]. 2024 Feb 6;25(4):1982–2. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10888449/
23. Tottoli EM, Dorati R, Genta I, Chiesa E, Pisani S, Conti B. Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. Pharmaceutics [Internet]. 2020 Aug 5;12(8):735. Available from: https://www.mdpi.com/1999-4923/12/8/735
24. Fatima A, Modolo L, Conegero Sanches A, Porto R. Wound Healing Agents: The Role of Natural and Non-Natural Products in Drug Development. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2008 Aug 1;8(9):879–88.
25. Wallace HA, Zito PM, Basehore BM. Wound Healing Phases [Internet]. Nih.gov. StatPearls Publishing; 2023. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470443/
26. Yazarlu O, Iranshahi M, Kashani HRK, Reshadat S, Habtemariam S, Iranshahy M, et al. Perspective on the application of medicinal plants and natural products in wound healing: A mechanistic review. Pharmacological Research. 2021 Dec;174:105841.
27. Valverde, Andrés Romero. "Cicatrización." Revista Médica Sinergia 1.9 (2016): 13-17.
28. Cañedo-Dorantes L, Cañedo-Ayala M. Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. International Journal of Inflammation [Internet]. 2019 Jun 2;2019(1):1–15. Available from: https://www.hindawi.com/journals/iji/2019/3706315/
29. García, Yanaysis Stable. "Cicatrización de heridas en la diabetes mellitus." Archivos de medicina 19.1 (2023): 4.
30. Arcos, Carlos Altamirano, et al. "Cicatrización normal y patológica: una revisión actual de la fisiopatología y el manejo terapéutico." Revista Argentina de Cirugía Plástica 25.1 (2019): 11-15.
31. Berlanga-Acosta J, Valdez-Pérez C, Savigne-Gutierrez W, Mendoza-Marí Y, Franco-Perez N, Vargas-Machiran E, et al. Particularidades celulares y moleculares del mecanismo de cicatrización en la diabetes. Biotecnología Aplicada [Internet]. 2026;27(4):255–61. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522010000400001
32. Dasari N, Jiang A, Skochdopole A, Chung J, Reece EM, Vorstenbosch J, et al. Updates in diabetic wound healing, inflammation, and scarring. Seminars in Plastic Surgery [Internet]. 2021;35(3):153–8. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8432997/
33. Bauer TM, Moon J, Shadiow J, Buckley S, Gallagher KA. Mechanisms of Impaired Wound Healing in Type 2 Diabetes: The Role of Epigenetic Factors. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2025 Mar 20;

34. Monavarian M, Kader S, Moeinzadeh S, ESMAIEL J. Regenerative Scar-Free Skin Wound Healing. Tissue Engineering Part B: Reviews. 2019 Apr 2;25(4).
35. Priscilla S, de, Rocha IC. Terapia tópica en el tratamiento de las heridas crónicas. Enfermería Global [Internet]. 2014;13(33):33–45. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1695-61412014000100003
36. Leite LRV, De Araújo ICR, Oliveira FDS. ASPECTOS FARMACÊUTICOS DA FARMACOTERAPIA DE FERIDAS: UMA REVISÃO DE LITERATURA. Educação, Ciência e Saúde. 2020 Jun 28;7(1).
37. Gushiken LFS, Beserra FP, Bastos JK, Jackson CJ, Pellizzon CH. Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. Life [Internet]. 2021 Jul 7;11(7):665. Available from: https://www.mdpi.com/2075-1729/11/7/665
38. InformedHealth.org. What are the treatment options for chronic wounds? [Internet]. Nih.gov. Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG); 2022. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326436/
39. A. Sanchez-Puigdollers, Toll A, D. Morgado-Carrasco. Cuidado de la herida quirúrgica tras cirugía dermatológica. Una actualización y revisión narrativa. Actas Dermo-Sifiliográficas [Internet]. 2024 Jun 1; Available from: https://www.actasdermo.org/es-cuidado-herida-quirurgica-tras-cirugia-articulo-S0001731024004885
40. Dowsett C, Harding K. The role of dressings in exudate management and wound progression. Wounds UK. 2016;12(4):1-8
41. Yousefian F, Hesari R, Jensen T, Obagi S, Rgeai A, Damiani G, et al. Antimicrobial Wound Dressings: A Concise Review for Clinicians. Antibiotics (Basel, Switzerland) [Internet]. 2023 Sep 11;12(9):1434. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37760730/
42. Alexander-Sinclair EI, Lapina ES, Edomenko NV, Kostyakov DV, Zinoviev EV, Blinova MI, et al. Biocompatibility Issues of Wound Dressings. Bioengineering [Internet]. 2025 Nov 2;12(11):1196–6. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12649606/
43. Criollo-Mendoza MS, Contreras-Angulo LA, Leyva-López N, Gutiérrez-Grijalva EP, Jiménez-Ortega LA, Heredia JB. Wound Healing Properties of Natural Products: Mechanisms of Action. Molecules. 2023 Jan 6;28(2):598.
44. Ibrahim N, Wong S, Mohamed I, Mohamed N, Chin KY, Ima-Nirwana S, et al. Wound Healing Properties of Selected Natural Products. International Journal of Environmental Research and Public Health [Internet]. 2018 Oct 25;15(11):2360. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6266783/
45. Liu E, Gao H, Zhao Y, Pang Y, Yao Y, Yang Z, et al. The potential application of natural products in cutaneous wound healing: A review of preclinical evidence.

Frontiers in Pharmacology [Internet]. 2022 Jul 22;13:900439. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9354992/
46. Silva B, Biluca FC, Gonzaga LV, Fett R, Dalmarco EM, Caon T, et al. *In vitro* anti-inflammatory properties of honey flavonoids: A review. Food Research International. 2021 Mar;141:110086.
47. Yu Y, Shen M, Song Q, Xie J. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. Carbohydrate Polymers [Internet]. 2018 Mar 1;183:91–101. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861717314066
48. Nosrati H, Khodaei M, Alizadeh Z, Banitalebi-Dehkordi M. Cationic, anionic and neutral polysaccharides for skin tissue engineering and wound healing applications. International Journal of Biological Macromolecules [Internet]. 2021 Dec 1;192:298–322. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813021021541
49. Zheng BD, Xiao MT. Polysaccharide-based hydrogel with photothermal effect for accelerating wound healing. Carbohydrate Polymers. 2023 Jan;299:120228.
50. Cui R, Zhang L, Ou R, Xu Y, Xu L, Zhan XY, et al. Polysaccharide-Based Hydrogels for Wound Dressing: Design Considerations and Clinical Applications. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2022 Mar 7;10.
51. Tian X, Wen Y, Zhang Z, Zhu J, Song X, Phan TT, et al. Recent advances in smart hydrogels derived from polysaccharides and their applications for wound dressing and healing. Biomaterials. 2025 Jan 1;123134–4.
52. Agarwal R, Niezgoda J, Niezgoda J, Madetipati N, Gopalakrishnan S. Advances in Hemostatic Wound Dressings: Clinical Implications and Insight. Advances in Skin & Wound Care. 2022 Feb;35(2):113–21.
53. Hill DM, Hickerson WL, Carter JE. A Risk-Benefit Review of Currently Used Dermal Substitutes for Burn Wounds. Journal of Burn Care & Research [Internet]. 2022 Dec 26;44(Supplement_1):S26–32. Available from: https://academic.oup.com/jbcr/article/44/Supplement_1/S26/6960747?login=f
54. Sharma A, Verma C, Singh P, Mukhopadhyay S, Gupta A, Gupta B. Alginate based biomaterials for hemostatic applications: Innovations and developments. International Journal of Biological Macromolecules. 2024 Apr;264:130771.
55. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. Wound Repair and Regeneration. 2008 Sep;16(5):585–601.
56. Hulkower KI, Herber RL. Cell Migration and Invasion Assays as Tools for Drug Discovery. Pharmaceutics. 2011 Mar 11;3(1):107–24.
57. Xu Q, Su W, Huang C, Zhong H, Huo L, Cai J, et al. Multifunctional Polysaccharide Self-Healing Wound Dressing: NIR-Responsive Carboxymethyl Chitosan / Quercetin Hydrogel. Advanced Healthcare Materials. 2024 Nov 17;14(3).

58. Seyedeh Kiana Teymoorian, Nouri H, Hamid Moghimi. *In-vivo* and *in-vitro* wound healing and tissue repair effect of Trametes versicolor polysaccharide extract. Scientific Reports [Internet]. 2024 Feb 15;14(1). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10869720/
59. Md Habban Akhter, Lamya Ahmad Al-Keridis, Saeed M, Habibullah Khalilullah, Safia Obaidur Rab, Aljadaan AM, et al. Enhanced drug delivery and wound healing potential of berberine-loaded chitosan–alginate nanocomposite gel: characterization and *in vivo* assessment. Frontiers in public health. 2023 Dec 27;11.
60. Diaz-Gomez L, Gonzalez-Prada I, Millan R, Da Silva-Candal A, Bugallo-Casal A, Campos F, et al. 3D printed carboxymethyl cellulose scaffolds for autologous growth factors delivery in wound healing. Carbohydrate Polymers. 2021 Nov;118924.
61. Tseng CC, Yeh HY, Liao ZH, Hung SW, Chen B, Lee PT, et al. An *in vitro* study shows the potential of Nostoc commune (Cyanobacteria) polysaccharides extract for wound-healing and anti-allergic use in the cosmetics industry. Journal of functional foods. 2021 Dec 1;87:104754–4.
62. Xu N, Wang L, Guan J, Tang C, He N, Zhang W, et al. Wound healing effects of a Curcuma zedoaria polysaccharide with platelet-rich plasma exosomes assembled on chitosan/silk hydrogel sponge in a diabetic rat model. International Journal of Biological Macromolecules. 2018 Oct;117:102–7.
63. Zhao B, Zhang X, Han W, Cheng J, Qin Y. Wound healing effect of an Astragalus membranaceus polysaccharide and its mechanism. Molecular Medicine Reports. 2017 Apr 20;15(6):4077–83.
64. El Sayed AM, Ezzat SM, El Naggar MM, El Hawary SS. *In vivo* diabetic wound healing effect and HPLC–DAD–ESI–MS/MS profiling of the methanol extracts of eight Aloe species. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2016 May;26(3):352–62.
65. Cárdenas, Carlos Iván Cruz; Medrano, Rosa Maria Escobedo Gracia. Estudio de fructanos en Musa. 2015. Tesis Doctoral. Centro de Investigación Científica de Yucatán
66. Wang M, Cheong KL. Preparation, Structural Characterisation, and Bioactivities of Fructans: A Review. Molecules. 2023 Feb 7;28(4):1613.
67. Bao T, He F, Zhang X, Zhu L, Wang Z, Lu H, et al. Inulin Exerts Beneficial Effects on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease via Modulating gut Microbiome and Suppressing the Lipopolysaccharide-Toll-Like Receptor 4-Mψ-Nuclear Factor-κB-Nod-Like Receptor Protein 3 Pathway via gut-Liver Axis in Mice. Frontiers in Pharmacology. 2020 Nov 30;11.
68. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. Carbohydrate Polymers [Internet]. 2014 Jan 30;101:368–78. Available from:

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861713009739?via%3Dihub
69. Karimi I, Ghowsi M, Mohammed LJ, Haidari Z, Nazari K, Schiöth HB. Inulin as a Biopolymer; Chemical Structure, Anticancer Effects, Nutraceutical Potential and Industrial Applications: A Comprehensive Review. Polymers [Internet]. 2025 Feb 4 ;17(3):412. Available from: https://www.mdpi.com/2073-4360/17/3/412
70. Martinez, Cynthia Luevano. "Identificación de especies de Bifidobacterias aisladas de ratas Sprague Dawley con inflamación intestinal y alimentadas con inulina de Agave tequilana Weber var. Azul." (2010).
71. Rivera-Huerta M. Evaluación de inulina de agave azul (Agave tequilana Weber var. azul) e inulina de achicoria (Cichorium intybus) y su combinación con isoflavonas, sobre los niveles de calcio en ratas Wistar (Hsd:Wi) ooforectomizadas [Tesis de maestría]. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2013. ru.dgb.unam.mx
72. Madrigal L, Sangronis E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. Archivos Latinoamericanos de Nutrición [Internet]. 2007 Dec 1;57(4):387–96. Available from: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222007000400012
73. Sheng W, Ji G, Zhang L. Immunomodulatory effects of inulin and its intestinal metabolites. Frontiers in Immunology [Internet]. 2023;14:1224092. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37638034/
74. Tang X, Liu L, Wu Y, Zhao Y, Lu C, Zhao R. An inulin-type polysaccharide from Atractylodis Macrocephalae Rhizoma can relieve psoriasis. International journal of biological macromolecules [Internet]. 2024 Summer;280(Pt 1):135667. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39278435/
75. Yoshida M, Funasaka Y, Saeki H, Yamamoto M, Kanda N. Dietary Fiber Inulin Improves Murine Imiquimod-Induced Psoriasis-like Dermatitis. International Journal of Molecular Sciences. 2023 Sep 17;24(18):14197–7.
76. Fatma Nur Parın, El-Ghazali S, Ayşenur Yeşilyurt, Uğur Parın, Ullah A, Khatri M. PVA/Inulin-Based Sustainable Films Reinforced with Pickering Emulsion of Niaouli Essential Oil for Potential Wound Healing Applications. Polymers. 2023 Feb 17;15(4):1002–2.
77. Xu J, Kenar JA. Rheological and Micro-Rheological Properties of Chicory Inulin Gels. Gels [Internet]. 2024 Feb 28 ;10(3):171–1. Available from: https://www.mdpi.com/2310-2861/10/3/171
78. Gruber S, Nickel A. Toxic or not toxic? The specifications of the standard ISO 10993-5 are not explicit enough to yield comparable results in the cytotoxicity assessment of an identical medical device. Frontiers in Medical Technology. 2023 Jun 14;5.

79. International Organization for Standardization. ISO 10993-5:2009 [Internet]. ISO. 2009. Available from: https://www.iso.org/standard/36406.html
80. Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. International Journal of Molecular Sciences [Internet]. 2021 Nov 26;22(23):12827. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8657538/
81. Koyanagi M, Kawakabe S, Arimura Y. A comparative study of colorimetric cell proliferation assays in immune cells. Cytotechnology [Internet]. 2016 Aug 1;68(4):1489–98. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4960196/
82. Duda Ł, Budryn G, Olszewska MA, Rutkowska M, Kruczkowska W, Grabowska K, et al. Evaluation of Inulin and Polyphenol Content and the Cytotoxicity of Cichorium intybus L. var. foliosum Root Extracts Obtained by Pectinase- and Pressure-Assisted Extraction. Nutrients [Internet]. 2025 Mar 16;17(6):1040. Available from: https://www.mdpi.com/2072-6643/17/6/1040#
83. Chen Y, Mi Y, Guo Z, Zhang H. Synthesis, Characterization, Antioxidant Activity, Antibacterial Activity, and Cytotoxicity of Quaternized Inulin Derivatives Bearing Aromatic Amides. Antioxidants. 2025 Sep 6;14(9):1091.
84. Ayala-Fuentes JC, Gallegos-Granados MZ, Villarreal-Gómez LJ, Marilena Antunes-Ricardo, Grande D, Chavez-Santoscoy RA. Optimization of the Synthesis of Natural Polymeric Nanoparticles of Inulin Loaded with Quercetin: Characterization and Cytotoxicity Effect. Pharmaceutics. 2022 Apr 19;14(5):888–8.
85. Sorg H, Sorg CGG. Skin Wound healing: of players, Patterns and Processes. European Surgical Research. 2022 Nov 23;64(2).
86. Chen J, Cheong K leong, Song Z, Shi Y, Huang X. Structure and protective effect on UVB-induced keratinocyte damage of fructan from white garlic. Carbohydrate Polymers. 2013 Jan;92(1):200–5.
87. Zhang QY, Lai MQ, Chen YK, Zhong MT, Gi M, Wang Q, et al. Inulin alleviates GenX-induced intestinal injury in mice by modulating the MAPK pathway, cell cycle, and cell adhesion proteins. Environmental pollution (Barking, Essex : 1987) [Internet]. 2024 Jan;362:124974. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39332800/
88. Zhang QY, Zhong MT, Gi M, Chen YK, Lai MQ, Liu JY, et al. Inulin alleviates perfluorooctanoic acid-induced intestinal injury in mice by modulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Environmental pollution (Barking, Essex : 1987) [Internet]. 2024 Jan;342:123090. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38072026/

89. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell [Internet]. National Library of Medicine. Garland Science; 2002. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/
90. Jin C, Jin Y, Ding Z, Kong Srey Nuch, Shim J, Chien PN, et al. Cellular and Molecular Mechanisms of Wound Repair: From Biology to Therapeutic Innovation. Cells [Internet]. 2025 Nov 24;14(23):1850–0. Available from: https://www.mdpi.com/2073-4409/14/23/1850?utm_source=chatgpt.com
91. Xue M, Jackson CJ. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. Advances in wound care. 2015;4(3):119–36. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4352699/
92. Amin Z, Koh SP, Tan CP, Long K. Evaluation of *in vitro* wound healing efficacy of breadfruit derived starch hydrolysate. International Food Research Journal [Internet]. 2017 ;24(4):1771–81. Available from: https://www.researchgate.net/publication/319494398_Evaluation_of_*in_vitro*_wound_healing_efficacy_of_breadfruit_derived_starch_hydrolysate
93. Calabrese EJ, Dhawan G, Kapoor R, Agathokleous E, Calabrese V. Hormesis: wound healing and keratinocytes. Pharmacological research. 2022 aug;106393. Available from: https://share.google/EXxgor0HDjRKg5sOo
94. Calabrese EJ, Dhawan G, Kapoor R, Evgenios Agathokleous, Calabrese V. Hormesis: wound healing and fibroblasts. Pharmacological Research. 2022 Sep 14;184:106449–9. Available from: https://share.google/KOVbSr64wpYUuQrk8
95. Walter MNM, Wright KT, Fuller HR, MacNeil S, Johnson WEB. Mesenchymal stem cell-conditioned medium accelerates skin wound healing: An *in vitro* study of fibroblast and keratinocyte scratch assays. Experimental Cell Research. 2010 Apr;316(7):1271–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20206158/
96. Kalirajan C, Behera H, Selvaraj V, Palanisamy T. *In vitro* probing of oxidized inulin cross-linked collagen-ZrO_2 hybrid scaffolds for tissue engineering applications. Carbohydrate polymers [Internet]. 2022 Jan;289:119458. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35483860/
97. Cheng CY, Hsu SH, Chokkalingam U, Dai YS, Shih PC, Ekambaranellore P, et al. Aloe polysaccharide promotes keratinocyte proliferation, migration, and differentiation by upregulating the EGFR/PKC-dependent signaling pathways. Scientific reports [Internet]. 2025 Oct;15(1):8196. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40064981/
98. Noda T, Hatakeyama M, Kitaoka T. Combination of Polysaccharide Nanofibers Derived from Cellulose and Chitin Promotes the Adhesion, Migration and Proliferation of Mouse Fibroblast Cells. Nanomaterials. 2022 Jan 26;12(3):402. Available from: https://doi.org/10.3390/nano12030402
99. Zhang C, He Y, Chen Z, Shi J, Qu Y, Zhang J. Effect of Polysaccharides from Bletilla striata on the Healing of Dermal Wounds in Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine [Internet]. 2019 Oct 24 ;2019:1–9. Available from: https://www.hindawi.com/journals/ecam/2019/9212314/
100. Veeraperumal S, Qiu HM, Zeng SS, Yao WZ, Wang BP, Liu Y, et al. Polysaccharides from Gracilaria lemaneiformis promote the HaCaT

keratinocytes wound healing by polarised and directional cell migration. Carbohydrate Polymers. 2020 Aug;241:116310. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861720304847
101. Zhang S, Zhang Q, Huang L. Structure-guided design of fructan-based carbohydrate polymers: From molecular architecture to microbial recognition and gut-interface performance. Carbohydrate Polymers [Internet]. 2026 July 9 ;389:125632. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861726007496?utm_source=chatgpt.com
102. Wang M, Cheong KL. Preparation, Structural Characterisation, and Bioactivities of Fructans: A Review. Molecules. 2023 Feb 7;28(4):1613. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9967297/
103. Shi Y, Si D, Zhang X, Chen D, Han Z. Plant fructans: Recent advances in metabolism, evolution aspects and applications for human health. Current Research in Food Science [Internet]. 2023 ;7:100595. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10517269
104. Zhang S, Zhang Q, Huang L. Structure-guided design of fructan-based carbohydrate polymers: From molecular architecture to microbial recognition and gut-interface performance. Carbohydrate Polymers [Internet]. 2026 July 9 ;389:125632. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861726007496
105. Cui R, Zhang L, Ou R, Xu Y, Xu L, Zhan XY, et al. Polysaccharide-Based Hydrogels for Wound Dressing: Design Considerations and Clinical Applications. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology [Internet]. 2022 Mar 7 ;10. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8937030
106. Nuutila K, Eriksson E. Moist wound healing with commonly available dressings. Advances in Wound Care [Internet]. 2021;10(12). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8568799/
107. Leyva-Porras C, Saavedra–Leos MZ, López-Pablos AL, Soto-Guerrero JJ, Toxqui-Terán A, Fozado-Quiroz RE. Chemical, Thermal and Physical Characterization of Inulin for its Technological Application Based on the Degree of Polymerization. Journal of Food Process Engineering. 2015 Dec 28;40(1). Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpe.12333
108. Hosty L, Heatherington T, Quondamatteo F, Browne S. Extracellular matrix-inspired biomaterials for wound healing. Molecular biology reports [Internet]. 2024 Summer ;51(1):830. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39037470/
109. Barker TH, Engler AJ. The provisional matrix: setting the stage for tissue repair outcomes. Matrix Biology. 2017 July;60–61:1–4. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0945053X17301142
110. Afinjuomo F, Abdella S, Youssef SH, Song Y, Garg S. Inulin and Its Application in Drug Delivery. Pharmaceuticals. 2021 Aug 26;14(9):855. Available from: https://www.mdpi.com/1424-8247/14/9/855
111. Mensink MA, Frijlink HW, van der Voort Maarschalk K, Hinrichs WLJ. Inulin, a flexible oligosaccharide. II: Review of its pharmaceutical applications. Carbohydrate polymers [Internet]. 2015 Oct ;134:418–28. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26428143/

112. Mensink MA, Frijlink HW, van der Voort Maarschalk K, Hinrichs WLJ. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. Carbohydrate Polymers [Internet]. 2015 Oct 5 ;130:405–19. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715004257
113. Pothal P, Chugh S, Kaur G, Kaur R, Singh SP, Suttee A, et al. Polysaccharide based biomaterials for advanced wound healing applications. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2026 Aug 18;16. Available from: https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2026.1910532/full
114. Zubair M, Hussain A, Shahzad S, Arshad M, Ullah A. Emerging trends and challenges in polysaccharide derived materials for wound care applications: A review. International Journal of Biological Macromolecules [Internet]. 2024 May 3 ;270:132048. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813024028538?via%3Dihub

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

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

Toda vez que el trabajo de tesis realizado por el **C. Luis Fabián Sánchez Méndez** estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10082305**, bajo la dirección del Dr. Juan José Acevedo Fernández, y codirección del Dr. Eduardo Lira Díaz, que lleva por título: **"Evaluación de la actividad cicatrizante de la inulina de achicoria y agave azul *in vitro* e *in vivo* en un modelo murino."**, ha sido revisado a satisfacción. Me permito en mi carácter como integrante 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 al 23 de octubre de 2026.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

DOLORES AZUCENA SALAZAR PIÑA | Fecha:2026-10-23 14:21:25 | FIRMANTE

l11bRKP3nvhNeB6hwkz/9U5SFG1iZWjmqHeOBgGIaADAXwaXCbym0oB22r0vMiCEiSmU3o/pHsycdQhw4Tde0OoB4xgJA9xkeYZx/YAL6XYSBixuhyJk6Cf17OV8xic6ykVLPpfveHVrI92bi9hwcDJ70mQQDzeLt9c+gD1aqst7FNhY+Wf0Nd0zzp0r3MonBTpND1BEo1Dw4DGW7LmzWoN+hjcLlDwub7//AHqppreMJcV1LzrB/hwmxVosWX1Z0JRRzR82YzGD/SJcloLPoZfKBentgpVAdU8jUb0i4S711AdEyXZEhuIzL6Ruu10UTDX/6V7cp1h40tlsJKKivw==

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

TZIcd6xYD

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/QOmyibJURZXHWCBneu7Qlx6eyLKcHG9d

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

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

Toda vez que el trabajo de tesis realizado por el **C. Luis Fabián Sánchez Méndez** estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10082305**, bajo la dirección del Dr. Juan José Acevedo Fernández, y codirección del Dr. Eduardo Lira Díaz, que lleva por título: **"Evaluación de la actividad cicatrizante de la inulina de achicoria y agave azul *in vitro* e *in vivo* en un modelo murino."**, ha sido revisado a satisfacción. Me permito en mi carácter como integrante 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. Delia Vanessa López Guerrero
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos al 30 de octubre de 2026.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

DELIA VANESSA LOPEZ GUERRERO | Fecha:2026-10-30 14:25:32 | FIRMANTE

jClVWvSDzolfILiB5JSlKcurh08Mapi17yzWD7VI+nppbYpPGNG+u4iqkj8TzAWd5n8RSzUjfLSwccrAdVl2CQWN6+xDLw5nqtsrt5ctAftU5j2LdHB7qtOnojCLAktaIlOZB9sdKaTSubwOEuOvlYw9GBPsat49MWWxVXwrqnyiNVmDSE8jYSVitQi7f01dBnAPIakvTN+OyQi8KGGKEij+nJKcWdSSTtffy8CWSMY2VXzsUAqGgYSTHESrXbj7VZTzAD3GK1BBgS7FvRk1rmS81XRjIRoJDldRLaptlARZLofnjNlv3arfzWITdt2kSbdf+xx6itMosKR+1Ahjog==

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

5ycOP3f6H

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/wqnny4GR5tdOUZbRkabVb7FxDmJ7tC5j

FACULTAD DE NUTRICIÓN

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

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

Toda vez que el trabajo de tesis realizado por el **C. Luis Fabián Sánchez Méndez** estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10082305**, bajo la dirección del Dr. Juan José Acevedo Fernández, y codirección del Dr. Eduardo Lira Díaz, que lleva por título: **"Evaluación de la actividad cicatrizante de la inulina de achicoria y agave azul *in vitro* e *in vivo* en un modelo murino."**, ha sido revisado a satisfacción. Me permito en mi carácter como integrante 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. Berenice Andrade Carrera
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos al 26 de octubre de 2026.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

BERENICE ANDRADE CARRERA | Fecha:2026-10-26 08:53:30 | FIRMANTE

wYLO5DrWE4SIOe9SpF6iqntxwT8UKPKMJQ2fXdEriCLsOEwFeuUa+iuExpCny0s8r2t68qGZzdT6su4kWlUF7wEq8CGoxosjDgLG6JV/39DL49GzV9dBMF1Ibe3qScgiuMOjcj4C1rwfgr63Hl+8nAYqHTDxwBQ6HFSJvtaSOjIPM8SnvoFyhdiTkECMRRSPOfKSj/GqiDXaqFABdr4vl0x/f/hcuotX6fTxvD/ZWIQMz53N9PK6lNwiAL3qOJc/VEyxBwMeq51yXxQu6w3VzHUboAAwLotIAhD7fFHwIqi2M7fFb5DrlD0etZ/M3mBN2uSdP/iboyRAwbjrcM/5Rg==

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

e6y2DtGUM

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/lVNJvYX9mw3WExCeTov4clmhJOntxXMR

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

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

Toda vez que el trabajo de tesis realizado por el **C. Luis Fabián Sánchez Méndez** estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10082305**, bajo la dirección del Dr. Juan José Acevedo Fernández, y codirección del Dr. Eduardo Lira Díaz, que lleva por título: **"Evaluación de la actividad cicatrizante de la inulina de achicoria y agave azul *in vitro* e *in vivo* en un modelo murino."**, ha sido revisado a satisfacción. Me permito en mi carácter como integrante 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. Margarita de Lorena Ramos García
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos al 23 de octubre de 2026.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

MARGARITA DE LORENA RAMOS GARCIA | Fecha:2026-10-23 14:44:51 | FIRMANTE

2nMZd/WkS+hv51fPG2IhRkQVc2RjQF7428d8aauSxr58aXwla15bsad472q5RD4YbI4PJnNOG9tMErgcGNPvEExVSuycAPfv3qMfRF0zO/hlSpDDna9C+6+qXXlHMhoEPuexVXR
Xy5uB7Uo+guR33WJ8ufqKyhtB/u29BzJf4av1UXlNxM+PwqlmQXT5ShnpKwJomZX/s78zbUCxGw109lyZnYdvTJulLSi/1AGJr7whM7gYdjrHFR8pbSVhE2vWKKVAgP+fgMUqqM
nY3UTISGUGsFr6TdK4+c4JnjIVr0czOVpH4oNiXqaT48boOSJTHdUUVzGyd9eXsLoMl3DCnQ==

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

5kDsQHnxt

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/4mRhlR4m5sMcY6GwmNdQiYUGBR628NhJ

FACULTAD DE NUTRICIÓN

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

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

Toda vez que el trabajo de tesis realizado por el **C. Luis Fabián Sánchez Méndez** estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula **10082305**, bajo la dirección del Dr. Juan José Acevedo Fernández, y codirección del Dr. Eduardo Lira Díaz, que lleva por título: **"Evaluación de la actividad cicatrizante de la inulina de achicoria y agave azul *in vitro* e *in vivo* en un modelo murino."**, ha sido revisado a satisfacción. Me permito en mi carácter como integrante 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. Eduardo Lira Díaz
Sinodal

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos al 3 de octubre de 2026.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

EDUARDO LIRA DÍAZ | Fecha:2026-10-03 15:33:23 | FIRMANTE

hhpkkBDh63xtWslQCLzpcMVOgP9H7oMqMbqTIxtoSXVQgeAlsmEQDeuE7SpX+C8ch5nxiaNOnZ5ePvxmxfsuXItp+Impy3Jlh8karYjrPbhf1TSnYunSnKUsLQajdqrw7MZ7ekpA5g
Wppi6q85AJ2lVGOQoSCfJyyy411xMEGQDtQlImlGxSLTx7C/Ol4KINckmW4v4ZeeCp4AypN1KdfJlahFs1aqXmfuw115Y695RdeD0f+72D5Zfg2Mc+n2Z5XpjdorVN0qUhTvyssXn0
dh+q9XSLv1BDoR1VJX0ihVb4fmk0Xrgz741VLUnYnRAHl8g4enVQfilsF2mjLd6rnQ==

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

Agq0R3vkE

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/I2xBaVlnroYufQHyhYToiQSQvXLnAmdw