



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y
TECNOLÓGICA**

POSGRADO EN NANOCIENCIA Y MATERIALES

**Desarrollo de un apósito a base de PLA con SRGD y
extractos de *Calendula Officinalis* y *Datura Stramonium*
para la cicatrización de heridas por quemaduras.**

Tesis que presenta

I.Q. Mónica Cristina Chávez Garzón

Para obtener el grado de

Maestra en Nanociencias y Materiales

Director de la Tesis:

Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios

San Luis Potosí, S.L.P., Diciembre 2025



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Desarrollo de un apósito a base de PLA con SRGD y extractos de *Calendula Officinalis* y *Datura Stramonium* para la cicatrización de heridas por quemaduras**” presentada para obtener el Grado de Maestro(a) en Nanociencias y Materiales fue elaborada por **Mónica Cristina Chávez Garzón** y aprobada el **día de mes de año** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios
Director de la tesis

luz alcantara

Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana
Miembro del Comité Tutorial

Dra. Daniela Joyce Trujillo Silva
Miembro del Comité Tutorial



Créditos Institucionales



Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Polímeros de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios.



Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (No. 1321049) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



Agradecimientos a la técnica M.C. Ana Iris Peña, del Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) por el apoyo con la técnica en microscopia electrónica de barrido (SEM).



Agradecimientos a la M. C. María Mercedes Zavala Arriaga, técnico del laboratorio de petroquímica y petrofísica (LabGeo-APP) de la división de Geociencias en el IPICYT, por su apoyo en la manipulación y proceso de fotomicrografías en microscopio petrográfico NIKON.



**DIVISIÓN DE
MATERIALES
AVANZADOS**

Agradecimiento al Dr. Vicente Rodríguez González por permitirme utilizar el equipo Espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier con el accesorio de reflexión total atenuada (FTIR-ATR) y al posdoctorante Pável César Hernández del Castillo por su apoyo para el uso del equipo.



CIACYT
Laboratorio Nacional
UASLP

Agradecimientos a la Dra. Luz Eugenia Alcántara de la Coordinación para la innovación y aplicación de la ciencia y la tecnología (CIACyT) por su apoyo y tutela en los ensayos biológicos.



DR MARCO KALIXTO
MEDICINA ESTÉTICA

Agradecimientos al Dr. Marco Antonio Kalixto Sánchez por facilitar la muestra de tejido utilizado para las pruebas de irritación dermatológica.

Página en Blanco que se va a utilizar para colocar la copia del acta de examen.

Dedicatorias

(hoja sin título)

Dedico este trabajo a mis padres, que con su amor, apoyo y paciencia me enseñaron el valor del esfuerzo. Sin ustedes, este sueño no habría sido posible.

A mis hermanas, que siempre han sido mi motivación para seguir adelante y no rendirme.

A mi querido abuelo, quien sembró en mí la semilla de la curiosidad y ha sido un pilar esencial en mi vida, tanto personal como profesional.

Y a mi querida “mamá Joleta”, por su amor, su apoyo incondicional y por estar siempre presente en cada paso de este camino.

Con todo mi corazón, gracias por acompañarme siempre.

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas e instituciones que hicieron posible la realización de esta tesis.

En primer lugar, agradezco a mi director de tesis, el Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios, por su guía, paciencia y valiosas sugerencias a lo largo de este trabajo. Su experiencia y dedicación fueron fundamentales para el desarrollo de esta investigación. Su constante motivación para ser una mejor estudiante, profesional y persona, así como su confianza en mí y todo su apoyo brindado, significan mucho. De todo corazón, muchas gracias.

Extiendo también un sincero agradecimiento a los miembros de mi comité tutorial por sus aportes, los cuales fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo, además de su disposición para resolver dudas y brindar apoyo en la medida de lo posible. Agradezco especialmente a la Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana por todo su respaldo en el área biológica del proyecto, tanto por permitirme ingresar y trabajar en su laboratorio como por compartir conmigo su conocimiento en esta disciplina. Muchas gracias a todos por su paciencia, apoyo y enseñanzas.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Polímeros, Yeraldi, Hugo, Antonio, Juan Carlos, Giovanni y Aarón por su apoyo constante, las discusiones académicas y los momentos de compañerismo que enriquecieron esta etapa. Su

ayuda, consejos y amistad fueron de gran ayuda para hacer esta aventura más amena y grata. Agradezco especialmente a Giovanni Sánchez por todo su apoyo y consejos los cuales fueron de gran ayuda para el desarrollo del proyecto de investigación sin perder tanto la cabeza. Un agradecimiento especial a mi compañero de laboratorio, vecino de área de trabajo, por su paciencia, anécdotas, y risas. Sin darme cuenta se ha convertido en un gran amigo y espero que esta amistad no se pierda.

A mi familia, mis padres Mónica Garzón y Juan Luis Chávez, les agradezco de todo corazón por su apoyo a lo largo de esta aventura. A mi madre, por animarme a ser valiente, y a mi padre, por estar siempre al pendiente de mí, ambos, procurando mi bienestar y alentándome a seguir creciendo, siempre con su respaldo y cariño. A mis abuelos, por su apoyo incondicional y por acompañarme en todo momento. En especial a mi abuelo, el Dr. José Antonio Garzón, por inspirarme a adentrarme en el mundo de la ciencia, despertar en mí la curiosidad y servirme de ejemplo, además de ser un pilar esencial en mi formación personal y profesional.

Finalmente, agradezco al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), por brindar los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación.

A todos ustedes, gracias por acompañarme en este proceso y por ser parte de la culminación de una de las metas más importantes de mi vida.

Índice

Constancia de aprobación de la tesisIII

Créditos InstitucionalesV

AgradecimientosIX

ÍndiceXII

Índice de tablasXVI

Índice de figurasXVII

Resumen1

Abstract3

Introducción5

Justificación8

Hipótesis10

Objetivos11

OBJETIVO GENERAL11

OBJETIVOS ESPECÍFICOS11

CAPITULO 1. Antecedentes de apósitos poliméricos para el tratamiento de quemaduras.13

1.1. ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO.13

1.2. GENERALIDADES DE LA PIEL.20

1.2.1 *Capas de la piel*21

1.2.1.1. Epidermis22

1.2.1.2. Dermis23

1.2.1.3. Hipodermis24

1.2.2. *Proceso de regeneración de la piel.*24

1.2.2.1. Primera fase: Homeostasis e inflamación.25

1.2.2.2. Segunda fase: Proliferación.25

1.2.2.3. Tercera fase: Maduración y remodelación.26

1.3 QUEMADURAS27

1.3.1 *Clasificación de las quemaduras.*27

1.3.1.1 Clasificación por grados o profundidad.28

1.3.1.2	Clasificación según el área superficial afectada.	30
1.3.1.3.	Determinación de la gravedad de una quemadura.	31
1.3.2.	<i>Tratamientos para quemaduras</i>	32
1.3.2.1	Injertos de piel.	32
1.3.2.2	Sustitutos de piel.	33
1.3.2.3	Formulaciones tópicas.	33
1.3.2.4	Apósitos.	33
1.4.	POLÍMEROS EN LA FABRICACIÓN DE APÓSITOS PARA QUEMADURAS.	35
1.4.1	<i>Poli (ácido láctico)</i>	38
1.5.	ÁCIDO ARGINIL-GLICIL-ASPÁRTICO (RGD) COMO ADITIVO EN APÓSITOS.	39
1.5.1.	<i>Molécula análoga al RGD</i>	39
1.6.	EXTRACTOS DE PLANTAS COMO ADITIVOS EN APÓSITOS.	40
1.6.1	<i>Caléndula officinalis (CO)</i>	41
1.6.2.	<i>Datura Stramonium (DS)</i>	42
1.7.	TÉCNICAS DE FABRICACIÓN DE APÓSITOS POLIMÉRICOS	44
1.7.1	<i>Hilado por giro presurizado</i>	44
1.7.2	<i>Hilado húmedo</i>	44
1.7.3	<i>Electrohilado</i>	45

Capítulo 2. Técnicas experimentales.48

2.1.	REACTIVOS QUÍMICOS UTILIZADOS.	48
2.1.1.	<i>Obtención del andamio EH de PLA</i>	48
2.1.2.	<i>Obtención de los extractos CO y DS</i>	48
2.1.3.	<i>Síntesis de SRGDs</i>	49
2.1.4.	<i>Obtención de apósito polimérico</i>	49
2.2.	METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DEL APÓSITO POLIMÉRICO Y LOS ELEMENTOS QUE LOS CONFORMAN.	50
2.2.1.	<i>Metodología para la fabricación de apósitos: PLA mediante EH</i>	50
2.2.2.	<i>Obtención de extractos de D. stramonium y C. officinalis</i>	51
2.2.2.1.	Obtención de extractos acuosos de D. stramonium y C. officinalis.	52
2.2.2.2.	Obtención de extractos etanólicos de D. stramonium y C. officinalis.	53
2.2.3.	<i>Obtención de la película de PLA con Extractos (PLA/Ext)</i>	54
2.2.4.	<i>Síntesis de la molécula análoga al RGD (SRGD)</i>	55
2.2.5.	<i>Obtención de la película de PLA con SRGD (PLA/SRGD)</i>	56
2.2.6.	<i>Fabricación de los apósitos PLA/SRGD/Ext</i>	57
2.3.	TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN UTILIZADAS.	58
2.3.1.	<i>Caracterización por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	59

2.3.2. Caracterización mediante Microscopía óptica.	59
2.3.3. Caracterización mediante Microscopía electrónica de barrido (SEM).	59
2.3.4. Caracterización por ángulo de contacto.	60
2.4. TÉCNICAS PARA LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA UTILIZADAS.	60
2.4.1. Preparación del medio para cultivo celular.	62
2.4.2. Preparación del cultivo celular.	62
2.4.3. Prueba de viabilidad celular.	63
2.4.4. Prueba de irritación.	63
2.4.5. Prueba de proliferación celular.	64
2.4.6. Análisis estadístico utilizado.	65
2.4.7. Ensayo de cicatrización en vivo.	65
Capítulo 3. Discusión de resultados.	67
3.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DEL ANDAMIO EH DE PLA.	67
3.1.1. Caracterización por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).	67
3.1.2. Caracterización de la morfología del EH de PLA.	69
3.1.3. Determinación del ángulo de contacto	71
3.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LOS EXTRACTOS	73
3.2.1 FTIR-ATR de los extractos DA, DE, CA y CE	73
3.2.1.1. Caracterización por FTIR de CA y CE	73
3.2.1.2. Caracterización por FTIR de DA y DE.	76
3.2.2. Viabilidad celular de los extractos.	79
3.2.3. Caracterización por ángulo de contacto de los apósitos PLA/Conc.	82
3.2.4. Viabilidad celular de los apósitos PLA/Ext.	84
3.2.5. Prueba de irritación de los apósitos PLA/Ext.	86
3.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LOS SRGDs SINTETIZADOS.	91
3.3.1. Caracterización por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).	91
3.3.2. Caracterización por ángulo de contacto de los apósitos PLA/SRGD	97
3.3.3. Viabilidad celular de los apósitos PLA/SRGD	99
3.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DEL APÓSITO POLIMÉRICO PLA/SRGD/EXT.	100
3.4.1. Caracterización por FTIR de apósito PLA/SRGD/Ext.	102
3.4.2. Caracterización por ángulo de contacto del apósito PLA/SRGD/Ext.	103
3.4.3. Viabilidad celular del apósito PLA/SRGD/Ext.	105
3.4.4. Pruebas de proliferación celular.	107
3.4.5. Pruebas in vivo del apósito PLA/SRGD/CA	110

Conclusión general115

Perspectivas116

Bibliografía117

Índice de tablas

Tabla 1.1. Principales funciones de la piel.	20
Tabla 1.2. Criterios para la determinación de la gravedad de una quemadura.	31
Tabla 1.3. Características de los polímeros más utilizados en la fabricación de apósitos.	36
Tabla 1.4. Efecto de los parámetros de la técnica de electrohilado.	47
Tabla 2.1. Técnicas de caracterización utilizadas	58
Tabla 2.2. Técnicas analíticas para la evaluación del desempeño biológico de los apósitos.	61
Tabla 3.1. Descripción de bandas resultantes del FTIR de EH de PLA.	68
Tabla 3.2. Descripción de bandas resultantes del FTIR de CA y CE.	76
Tabla 3.3. Descripción de bandas resultantes del FTIR de DA y DE.	78
Tabla 3.4. Escala de puntuación clínica según OECD TG 404.	89
Tabla 3.5. Descripción de bandas resultantes del FTIR SRGDs.	93
Tabla 3.6. Resultados de extractos y SRGDs obtenidos.	101

Índice de figuras

- Figura 1.1. Red interconectada de conceptos claves resultante del análisis por co-ocurrencia.15
- Figura 1.2. Análisis de la evolución temporal de los conceptos claves obtenidos mediante el análisis por coocurrencia.17
- Figura 1.3. Polímeros encontrados en el compendio de palabras clave resultante de la búsqueda de “Polymer” AND “Treatment” AND “Burn wound”.18
- Figura 1.4. Representación de las capas de la piel y sus funciones. Creado en <https://BioRender.com>21
- Figura 1.5 Clasificación de las quemaduras por grados. (Clasificación de Quemaduras, 2021).28
- Figura 1.6. Regla de los 9 para calcular la extensión de las quemaduras.30
- Figura 1.7. Estructura química del poli (ácido láctico)38
- Figura 1.8. Estructura del ácido arginil-glicil-aspartico (RGD).39
- Figura 1.9. Imagen de la planta Calendula Officinalis (Logan Hailey, 2024)41
- Figura 1.10. Imagen de la planta Datura Stramonium (DS) (Andrew Haynes, 2014)42
- Figura 1.11. Diagrama esquemático del equipo de electrohilado. Creado en <https://BioRender.com>46
- Figura 2.1. Esquematización de procedimiento para la fabricación del electrohilado de PLA. Creado en <https://BioRender.com>51
- Figura 2.2. Esquematización de procedimiento para la obtención de los extractos (a) acuosos y (b) etanólicos de D. stramonium (DA y DE respectivamente) y C. officinalis (CA y CE respectivamente). Creado en <https://BioRender.com>52
- Figura 2.3. Esquematización de procedimiento de obtención de los extractos D. stramonium acuoso (DA) y etanólico (DE), C. officinalis acuoso (CA) y etanólico (CE), en concentraciones de 20 µg/ml, 30 µg/ml y 50 µg/ml. Creado en <https://BioRender.com>54

Figura 2.4. Esquematización de la metodología utilizada para la obtención de los apósitos PLA/Ext. Creado en <https://BioRender.com55>

Figura 2.5. Esquematización de la síntesis de los SRGDs: 2:1/50°C, 3:1/50°C, 2:1/90°C, 3:1/90°C. Creado en <https://BioRender.com56>

Figura 2.6. Esquematización de la metodología utilizada para la obtención de los apósitos PLA/SRGD. Creado en <https://BioRender.com57>

Figura 2.7. Esquematización de la metodología utilizada para la obtención de los apósitos PLA/SRGD/Ext. Creado en <https://BioRender.com58>

Figura 3.1. a) Espectro correspondiente al electrohilado de PLA, b) Estructura química del PLA⁶⁸

Figura 3.2. a) Fotografía del andamio EH de PLA recortado en un círculo de 6mm de diámetro, b) Imagen de microscopía óptica a 4X del andamio EH y c) Imagen SEM de andamio EH a 100X.⁷⁰

Figura 3.4. a) Ejemplos de compuestos presentes en CO y b) FTIR de CA y CE⁷⁴

Figura 3.5. a) FTIR de DA y DE, b) Ejemplos de compuestos presentes en DS.⁷⁸

Figura 3.6. Porcentaje de viabilidad celular resultante del ensayo MTT de los extractos: D. stramonium acuoso (DA) y etanólico (DE), C. officinalis acuoso (CA) y etanólico (CE), en concentraciones de 20 µg/ml, 30 µg/ml y 50 µg/ml. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)⁸⁰

Figura 3.7. A) Medición del ángulo de contacto de los andamios: **a)**PLA, **b)**PLA/CA20, **c)**PLA/CE20, **d)**PLA/CA50, **e)**PLA/CE50, **f)**PLA/DA20 y **g)**PLA/DE20. B) Ejemplificación de presencia de CO/DS en EH.⁸³

Figura 3.8. Porcentaje de viabilidad celular resultante del ensayo MTT ($p < 0.05$) de los apósitos: PLA, PLA/DA 20 µg/ml, PLA/DE 20 µg/ml, PLA/CA 20 µg/ml, PLA/CE 20 µg/ml, PLA/CA 50 µg/ml y PLA/CE 50 µg/ml.⁸⁶

Figura 3.9. Corte histológico a 20x de un paciente sano donde se identificaron los principales elementos que conforman el tejido cutáneo, a través de una tinción convencional de hematoxilina y eosina. Las capas de la epidermis se ejemplifican en con la imagen del recuadro.⁸⁷

Figura 3.10. Análisis histológico del tejido expuesto a los apósitos PLA/Conc. a) Control (+), b) PLA, c) PLA/CA 50 µg/ml, d) PLA/CE 50 µg/ml, e) PLA/CA 20 µg/ml, f) PLA/CE 20 µg/ml, g) PLA/DA 20 µg/ml y h) PLA/DE 20 µg/ml.90

Figura 3.11. Reacción para síntesis de SRGD propuesta.91

Figura 3.12. Espectros de FTIR de los SRGDs: 2:1/50°C, 3:1/50°C, 2:1/90°C y 3:1/90°C, así como de las materias primas.92

Figura 3.13. Mecanismo de reacción para síntesis de SRGD.94

Figura 3.14. Efecto de la relación molar urea: ácido cítrico.95

Figura 3.15. Posibles productos en el proceso de síntesis96

Figura 3.16. Medición del ángulo de contacto de los andamios: a) PLA, b) PLA/SRGD 2:1/50°C, c) PLA/SRGD 3:1/50°C, d) PLA/SRGD 2:1/90°C y e) PLA/SRGD 3:1/90°C antes.97

Figura 3.17. Propuesta de posible interacción entre SRGD y PLA electrohilado.98

Figura 3.18. Porcentaje de viabilidad celular mediante ensayo MTT para la determinación de la viabilidad celular de PLA/SRGDs. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)99

Figura 3.19. Espectros de FTIR de PLA (azul) y PLA/3:1/90°C/CA50 (rojo).102

Figura 3.20. Medición del ángulo de contacto de los andamios: a) PLA, b) PLA/SRGD, c) PLA/CA50, d) PLA/SRGD/CA50 and e) Comercial.104

Figura 3.21. Porcentaje de viabilidad celular de células 3T3 mediante ensayo MTT de: PLA, Comercial (SupraSDRM®), PLA/3:1/90°C, PLA/CA50 y PLA/3:1/90°C/CA50. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)106

Figura 3.22. Porcentaje de viabilidad celular de tejido de ratón mediante ensayo MTT de: PLA, Comercial (SupraSDRM®), PLA/3:1/90°C/CA50 y PLA/3:1/90°C. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)107

Figura 3.23. Absorbancias resultantes de prueba de proliferación celular de 3T3 mediante ensayo BrdU de: PLA, PLA/CA50, PLA/3:1/90°C, PLA/3:1/90°C/CA50 y Comercial (SupraSDRM®). Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)108

Figura 3.24. Mediciones de las heridas durante 21 días: tratamiento comercial SupraSDRM® (rojo) y apósito PLA/3:1/90°C/CA50 (verde).111

Figura 3.25. Corte histológico a 4x de un segmento de tejido de ratón Balb/C; a) sin lesionar; b) lesionada, tratada con el apósito comercial SupraSDRM®; c) lesionada, tratada con el apósito PLA/3:1/90°C/CA50. Utilizando una tinción convencional de hematoxilina y eosina (H&E).113

Resumen

En México, las quemaduras de segundo grado causadas por exposición a altas temperaturas representan uno de los principales desafíos para el sistema de salud, debido a sus implicaciones clínicas y sociales. De acuerdo con el Instituto Nacional de Rehabilitación, en 2020 se reportaron 48,111 nuevos casos, de los cuales aproximadamente la mitad correspondían a personas en edad productiva.

Frente a esta problemática, el presente trabajo propone el desarrollo de un apósito polimérico electrohilado a base de ácido poliláctico (PLA), funcionalizado con extractos de *Calendula officinalis* (CO) y *Datura stramonium* (DS), así como con una molécula promotora de adhesión celular (SRGD). El objetivo fue obtener un material con propiedades bioactivas, capaz de favorecer la proliferación celular y facilitar la regeneración cutánea, manteniendo además características de bajo costo, accesibilidad y facilidad de aplicación.

Se evaluaron la viabilidad celular y la hidrofiliidad de los electrohilados de PLA impregnados con extractos etanólicos y acuosos de CO y DS en distintas concentraciones. El extracto que presentó los mejores resultados fue el de *C. officinalis* a 50 µg/ml (CA50), con una viabilidad celular superior al 90 % y un ángulo de contacto de 54.67°, indicando buena hidrofiliidad.

Por otra parte, se sintetizó la molécula SRGD, basada en trabajos previos, optimizando las condiciones de reacción (temperatura de 90 °C y relación molar 3:1), lo cual permitió obtener un compuesto altamente hidrofílico ($\theta \approx 0^\circ$) y con excelente compatibilidad celular (>90 % de viabilidad).

Como resultado, se obtuvo un apósito compuesto por PLA, CA50 y SRGD, con un ángulo de contacto de 67.54°, excelente biocompatibilidad con células fibroblásticas 3T3, y una alta tasa de proliferación celular. En un modelo in vivo, este apósito alcanzó un 87.5 % de cierre de herida a los 21 días. Comparado con un apósito comercial, el material desarrollado mostró resultados prometedores en términos de biocompatibilidad y propiedades físico-químicas, lo que respalda su

potencial como alternativa terapéutica para el tratamiento de quemaduras de segundo grado.

Palabras Clave: *D.stramonium*, *C.officinalis*, quemaduras, cicatrización, andamio-polimérico, Poli (ácido láctico).

Abstract

In Mexico, second-degree burns caused by exposure to high temperatures represent one of the main challenges for the national healthcare system due to their clinical and social implications. According to the National Institute of Rehabilitation, 48,111 new cases were reported in 2020, approximately half of which affected people of productive age.

In response to this issue, this research proposes the development of an electrospun polymeric dressing based on polylactic acid (PLA), functionalized with extracts of *Calendula officinalis* (CO) and *Datura stramonium* (DS), as well as a cell adhesion-promoting molecule (SRGD). The aim was to obtain a bioactive material capable of enhancing cell proliferation and supporting skin regeneration, while also being low-cost, accessible, and easy to apply.

Cell viability and hydrophilicity were evaluated in PLA electrospun mats impregnated with ethanolic and aqueous extracts of CO and DS at various concentrations. The most favorable results were obtained with *C. officinalis* at 50 $\mu\text{g/ml}$ (CA50), which showed over 90% cell viability and a contact angle of 54.67°, indicating good hydrophilicity.

Additionally, the SRGD molecule was synthesized based on previous studies, optimizing reaction conditions (temperature of 90 °C and 3:1 molar ratio), resulting in a highly hydrophilic compound ($\theta \approx 0^\circ$) with excellent cell viability (>90%).

As a result, a dressing composed of PLA, CA50, and SRGD was obtained, exhibiting a contact angle of 67.54°, excellent biocompatibility with 3T3 fibroblast cells, high cell proliferation, and promising performance in an in vivo test, achieving 87.5% wound closure after 21 days. Compared to a commercial dressing, the developed material demonstrated promising results in terms of biocompatibility and physicochemical properties, supporting its potential as a therapeutic alternative for the treatment of second-degree burns.

Keywords: *D.stramonium*, *C.officinalis*, burn, wounds-healing, polymeric scaffolding, Poly (lactic acid).

Introducción

La piel es el órgano que recubre toda la superficie externa del cuerpo humano conformada por tres capas principales: epidermis, dermis e hipodermis. Su importancia radica en sus funciones como barrera protectora del cuerpo, su termorregulación, producción de vitamina D, entre otras; aunado a la percepción estética de un individuo. Cuando este órgano se ve dañado debido a algún tipo de traumatismo, infección o enfermedad se dice que existe una lesión; tal es el caso de las quemaduras que son lesiones causadas por traumatismos físicos, químicos o biológicos, que conducen a la alteración superficial, ya sea parcial o total, de los tejidos implicados.

En México, las quemaduras de segundo grado, generadas por exposición a altas temperaturas, son lesiones que representan una de los problemas de salud más importantes del país debido las implicaciones tanto de salud como del manejo de posibles secuelas y la reintegración a la vida social y laboral, considerando que en el 2020 se reportaron 48,111 casos nuevos de los cuales la mitad de los lesionados eran individuos en edad productiva.

Existen varios tipos de tratamientos para las heridas por quemaduras de segundo grado, entre ellos el uso de apósitos poliméricos. Este material debe mantener la humedad en el lecho de la quemadura, además de ser capaz de absorber el exudado. Entre los polímeros utilizados para la fabricación de los apósitos está el

poli (ácido láctico) (PLA), un poliéster alifático biodegradable de origen biológico, que posee buenas propiedades mecánicas, antiinflamatorias y puede ser absorbido por el cuerpo humano.

Además, durante la obtención de andamios poliméricos se pueden adicionar extractos de plantas medicinales, fármacos, nanomateriales, entre otros, con la finalidad de proveerle de características particulares que tengan determinada funcionalidad. Así, por ejemplo, el uso de una molécula análoga al péptido RGD facilitaría la adhesión de las células en el apósito polimérico, además de incrementar la densidad y la migración celular en el microambiente. Por otro lado, la planta *Calendula Officinalis* (CO) ha sido utilizada para el tratamiento de heridas, úlceras y cicatrices debido a sus propiedades bioactivas como son: analgésicas, antiinflamatorias, antiulcerosas y propiedades antidiabéticas; haciéndola ideal para promover la cicatrización de heridas. En cuanto a *Datura Stramonium* (DS), es una planta que es nativa de México que, a pesar de ser reconocida por sus efectos tóxicos y alucinógenos al ser ingerida, posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antioxidantes, mostrando un gran potencial como auxiliar en el tratamiento de quemaduras.

Los tratamientos más efectivos para la cicatrización y restauración de áreas quemadas, disponibles actualmente, desafortunadamente no son fácilmente accesibles para la población en general y su uso es traumático debido a la frecuencia en los cambios o curaciones y la incomodidad que pueden generar.

Ante esto, esta investigación propone el estudio y desarrollo de un apósito polimérico compuesto de Poli(ácido láctico)(PLA), extracto de plantas medicinales (*Calendula officinalis* (CO) y *Datura Stramonium* (DS)) y una molécula promotora de adhesión celular (SRGD) análoga al ácido arginil-glicil-aspártico (RGD) , como una alternativa capaz de exhibir efectos cicatrizantes, debido a la proliferación celular eficaz; además de que se pretende que sea accesible económicamente, fácil de procesar y cómoda de utilizar.

Justificación

Las quemaduras representan un grave problema de salud pública a nivel mundial. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se registran aproximadamente 180,000 muertes a causa de quemaduras (Smolle et al., 2017). En México, esta situación también es preocupante, ya que las quemaduras ocupan el decimotercer lugar entre las principales causas de mortalidad. Según datos del Instituto Nacional de Rehabilitación, la incidencia de quemaduras en el país es de aproximadamente 3,706 casos por cada 100,000 habitantes. Un estudio reciente realizado por Rendón Mejía et al. (2024), donde se analizaron a 208 pacientes con quemaduras, se reportó una media del 21.3% de superficie corporal quemada; el principal agente causal fue el fuego directo (67.3%) y el grado de mayor incidencia fue el segundo grado, con 54.6% de los casos. Aunado a ello, en el año 2020 se registraron 48,111 nuevos casos de quemaduras, que se suman a los cientos de miles de personas que ya viven con secuelas permanentes y enfrentan dificultades para reintegrarse a la vida social y laboral. Esta problemática se intensifica al considerar que una gran proporción de los pacientes afectados se encuentra en edad productiva, lo que convierte a las quemaduras en uno de los desafíos más relevantes para la salud pública en México (Alcocer Varela, Reyes Terán et al., 2022).

Además, los tratamientos más efectivos para la cicatrización y restauración de áreas quemadas presentan otra limitante significativa: su carácter traumático de su aplicación, dado que requieren cambios frecuentes de apósitos, lo cual genera

incomodidad y dolor al paciente. Por lo tanto, se vuelve imprescindible continuar la búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces para el tratamiento de quemaduras de segundo grado, que además de favorecer la cicatrización, sean accesibles económicamente, fáciles de procesar y aplicar, y que mejoren la experiencia del paciente durante su recuperación.

Hipótesis

I. La combinación del uso de plantas medicinales como DS o CO con el SRGD, incrementará la proliferación de fibroblastos sobre fibras de PLA, debido a la interacción entre los grupos afines presentes en los extractos/SRGD y los fibroblastos.

II. La variación de la estructura molecular del SRGD modificará su efectividad como promotor de proliferación celular, debido a la distribución de las amidas en la estructura molecular resultante.

Objetivos

Objetivo general

Desarrollar un apósito polimérico, con base en PLA, conformado por moléculas promotoras de adhesión celular y extractos de plantas naturales que favorezcan la retención de agua y la biocompatibilidad celular, con el fin de crear una estructura que promueva la proliferación celular facilitando el proceso de cicatrización de piel.

Objetivos específicos

1. Determinar la concentración de PLA, así como las condiciones de procesamiento por electrohialdo (EH) (voltaje, velocidad de flujo y distancia de aguja al colector), para obtener una membrana no tejida que permita la proliferación y migración de los fibroblastos a través de ésta.
2. Obtener los extractos etanólicos y acuosos de las plantas medicinales DS y CO mediante las técnicas de maceración y decocción; respectivamente, y determinar las concentraciones que favorezcan una mayor viabilidad de células 3T3.

3. Evaluar el potencial irritante de los extractos en tejido *ex vivo* mediante análisis histológico.
4. Establecer la relación entre los compuestos presentes en los concentrados de las plantas medicinales y sus propiedades de afinidad celular.
5. Determinar el efecto de la variación de la relación molar entre los reactivos y la temperatura de síntesis en la estructura molecular del compuesto análogo al ácido arginil-glicil-aspártico (SRGD), y su capacidad para promover la adhesión celular de fibroblastos sobre una película de PLA.
6. Desarrollar un apósito polimérico PLA/SRGD/Concentrado, mediante la impregnación de la membrana electrohilada del PLA con el SRGD y los extractos seleccionados.
7. Determinar la capacidad de proliferación de células 3T3 del apósito resultante.
8. Evaluar el desempeño del apósito resultante como promotor de cicatrización de heridas mediante pruebas *in vivo*.

CAPITULO 1. Antecedentes de apósitos poliméricos para el tratamiento de quemaduras.

1.1. Análisis bibliométrico.

Los indicadores bibliométricos son utilizados como una herramienta para el análisis del estado del arte sobre un tópico en particular. Dichos indicadores permiten valorar la actividad científica y el impacto tanto del trabajo, como de las fuentes (Diego Camps, 2008). Es por el anterior motivo que en el presente trabajo se utilizó el software de código abierto *VOS Viewer* para realizar el análisis de la actividad sobre la temática de tratamientos para heridas por quemaduras a partir de los datos adquiridos de la base de datos Scopus®.

Para lo anterior, se utilizó la siguiente secuencia de búsqueda: TITLE-ABS-KEY ((“Polymer*” OR “biopolymer*”) AND (“Treatment” OR “healing”) AND (“burn wound*” OR “burn injury”) AND NOT (“article” AND “non human” AND “men” AND “woman” AND “animal*”)), obteniéndose 84 artículos científicos publicados en el periodo 2014-2025.

Mediante el software *VOS Viewer* y el archivo con los 84 artículos encontrados en scopus, se realizó el análisis de co-ocurrencia de las palabras claves del índice de los artículos, así como las propuestas por los autores, identificando las más utilizadas y la relación entre ellas, reflejando así las tendencias en la temática de tratamientos para heridas por quemaduras. Se utilizó como parámetro de co-ocurrencia un valor igual o mayor a 3 con el fin de identificar los temas que ya

mostraban una recurrencia significativa y así obtener un panorama más preciso del tema.

El mapa resultante del análisis realizado se muestra en la Figura 1.1, donde se observan círculos de diferentes tamaños y colores etiquetados con las palabras claves, las cuales están unidas unas con otras por líneas de distintos colores. Los colores representan grupos que el software crea con base en qué tan estrechamente relacionadas están las palabras claves entre sí, ayudando a identificar las tendencias y áreas de colaboración. El tamaño del círculo indica el número de co-ocurrencias de dicha palabra, entre más grande el círculo la palabra se repite más veces; mientras que las líneas indican qué palabra clave está relacionada con cuál otra.

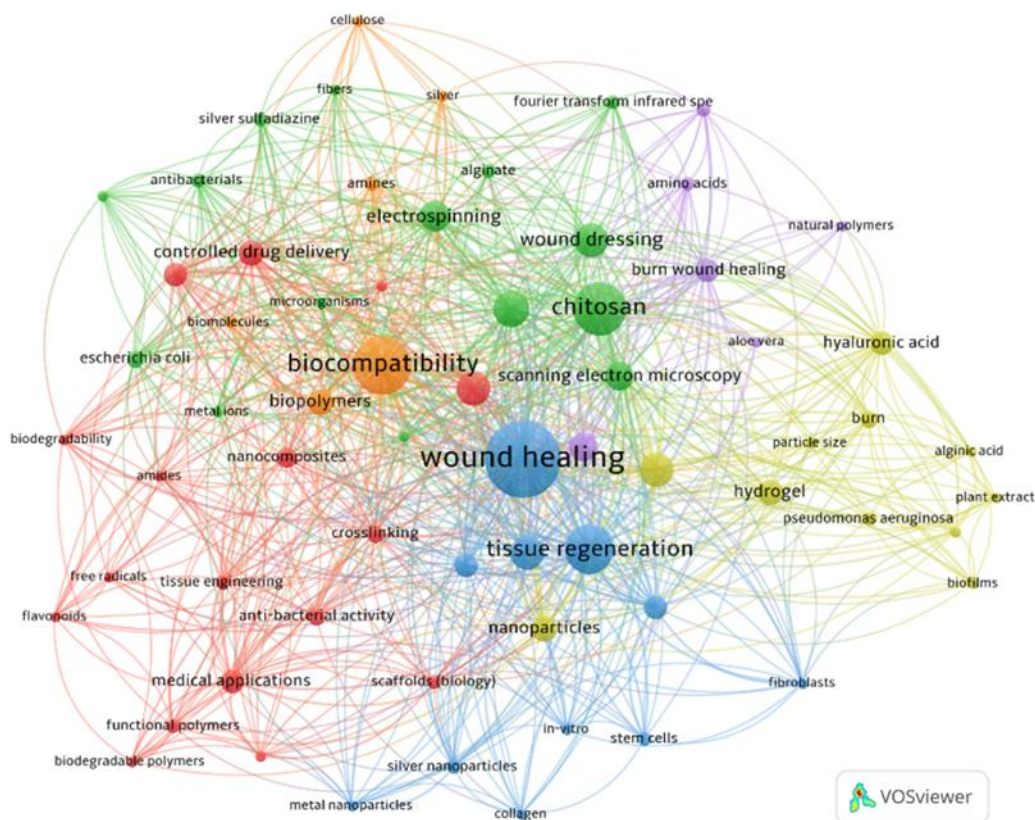


Figura 1.1. Red interconectada de conceptos claves resultante del análisis por co-ocurrencia.

Al analizar la red interconectada de los conceptos clave en conjunto con las tendencias de búsqueda, las cuales se relacionan con las palabras clave de los seis grupos representados por los colores verde, azul, naranja, amarillo, morado y rojo; se puede establecer que, en general, se utilizan composites poliméricos como hidrogeles o apósitos biocompatibles, enfocados en la cicatrización y regeneración de tejido dañado por quemaduras, debido a su flexibilidad de manipulación y variedad de posibles combinaciones de polímeros y aditivos que en conjunto presenten propiedades que ayuden al proceso de curación de una quemadura. Además, para lograr las características de biocompatibilidad, suelen

incorporarse aditivos como nanopartículas metálicas (principalmente de plata), extractos de plantas, fármacos y compuestos como los flavonoides, el ácido hialurónico, el colágeno, entre otros.

Al revisar el análisis bibliométrico, se detectó que una de las técnicas de procesamiento más utilizadas para el desarrollo la fabricación de estos materiales es el electrohilado, que permite obtener fibras del polímero seleccionado, las cuales conforman el apósito o hidrogel. Esta técnica ha generado gran interés debido a la variedad de polímeros que se pueden procesar, su capacidad para producir fibras con tamaños nanométricos, lo que aumenta significativamente el área superficial, y la posibilidad de controlar la porosidad del recubrimiento (Bhardwaj & Kundu, 2010; Hosseinkazemi et al., 2015)

Con base en la metodología de búsqueda utilizada, y con el software Vos Viewer se visualiza la temporalidad de la actividad investigadora en torno al desarrollo de materiales para la regeneración dérmica en heridas por quemaduras. Esta representación en el tiempo se muestra en la Figura 1.2, donde se observa un cambio en la tendencia de investigación relacionada con el uso de polímeros. Inicialmente, en 2020, se utilizaban principalmente nanopartículas funcionalizadas para aplicaciones medicinales. Sin embargo, esta tendencia ha evolucionado hacia la fabricación de apósitos y, más recientemente, en 2023, hacia la creación de hidrogeles antibacteriales, biodegradables y biocompatibles, especialmente diseñados para interactuar con los fibroblastos (Gholipour-Kanani et al., 2014; Kharat et al., 2021; Liu et al., 2024).

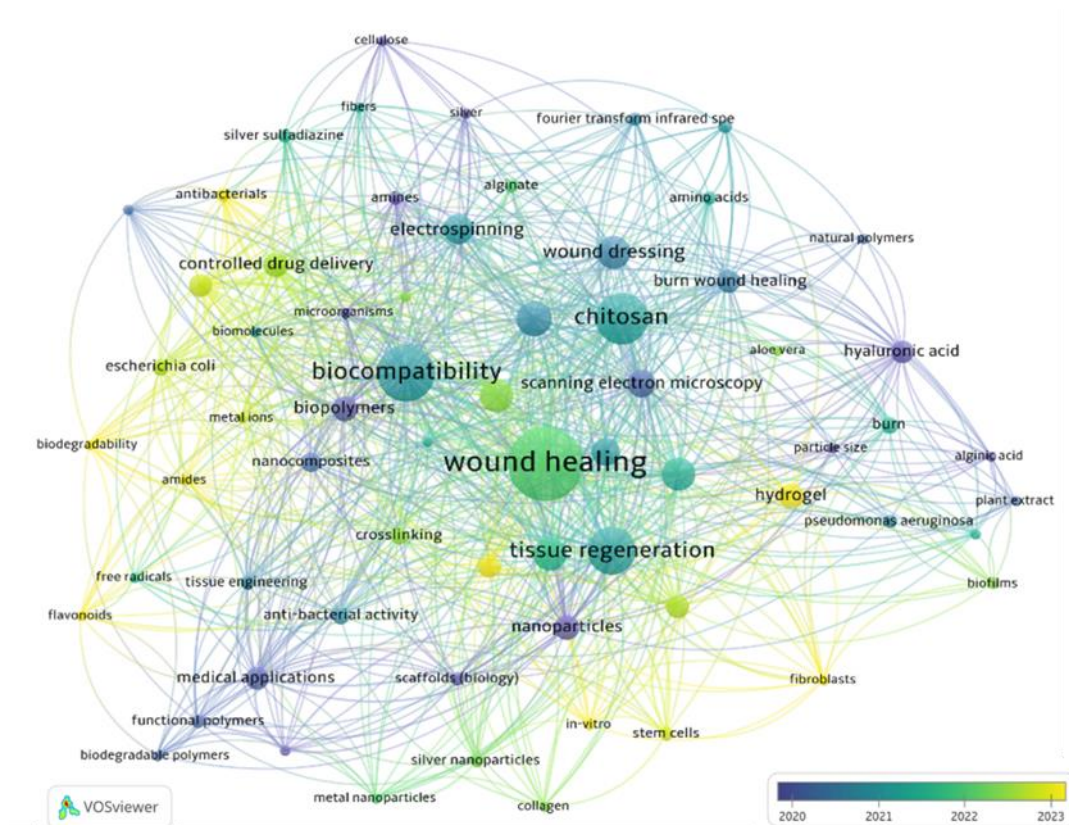


Figura 1.2. Análisis de la evolución temporal de los conceptos claves obtenidos mediante el análisis por coocurrencia.

Por último, utilizando la misma metodología de búsqueda, se realizó otro análisis, pero esta vez enfocándose en los polímeros más comúnmente utilizados para la cicatrización y regeneración de heridas por quemaduras. Para ello, se exportaron todas las palabras clave del análisis anterior junto con sus co-ocurrencias, y posteriormente se descartaron las palabras clave que no fueran el nombre químico de un polímero. El resultado de este análisis se presenta en la Figura 1.3, donde se observa el nombre del polímero y su co-ocurrencia considerando todas las posibles variaciones en el nombramiento de ese polímero, por ejemplo: para el

“poli (alcohol vinílico)”, también se considera las opciones de “pva”, “poli alcohol vinílico”, “alcohol vinílico”, etc.

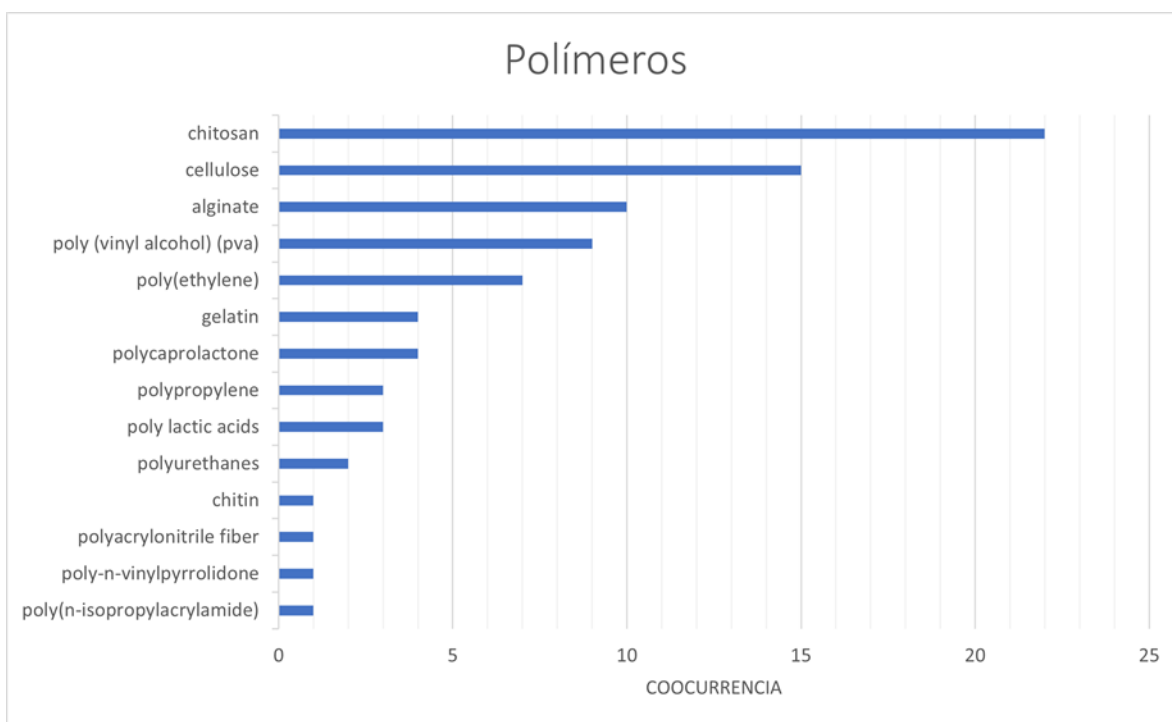


Figura 1.3. Polímeros encontrados en el compendio de palabras clave resultante de la búsqueda de “Polymer” AND “Treatment” AND “Burn wound”.

De los polímeros con mayor actividad de investigación en el tratamiento de heridas por quemadura se encuentra el quitosano, seguido de la celulosa y el alginato, siendo éstos biopolímeros. Mientras que, en relación a los polímeros sintéticos, se encuentra en primer lugar el poli (alcohol vinílico), seguido del polietileno, policaprolactona, polipropileno. Todos los polímeros mencionados anteriormente se caracterizan por su biocompatibilidad y cierto grado de biodegradabilidad (Hosseinkazemi et al., 2015; Kharat et al., 2021; Liu et al., 2024; Miranda Altamirano, 2020; Sorkhabi et al., 2022). Entre ellos, los biopolímeros como el

quitosano, son de los más utilizados debido a sus propiedades bioactivas (adhesión y proliferación celular). Sin embargo, su escasa solubilidad y sus limitadas propiedades mecánicas (baja resistencia a la tracción, elasticidad y compresibilidad) representan un inconveniente para su aplicación en apósitos (Hardiansyah et al., 2015; Liu et al., 2024; Romero-Serrano Id & Pereira, 2020). Para solucionar esta problemática se ha incursionado en el uso de polímeros sintéticos, los cuales se caracterizan por poseer mejores propiedades mecánicas, aunque con limitadas propiedades bioactivas (Liu et al., 2024). Uno de los polímeros que aparecen en la gráfica, más no es de los más investigados, es el PLA, un biopolímero que posee buenas propiedades mecánicas, antiinflamatorias y puede ser absorbido y biodegradado por el cuerpo humano, además de tener permeabilidad al vapor y oxígeno, y que al degradarse forma ácido láctico evitando así el crecimiento bacteriano, siendo un buen candidato para la fabricación de apósitos poliméricos para aplicaciones biomédicas (Liu et al., 2024; Miranda Altamirano, 2020)

Los resultados de este análisis bibliométrico sugieren que el enfoque del proyecto titulado “*Desarrollo de un apósito a base de PLA con SRGD y extractos de Calendula Officinalis y Datura Stramonium para la cicatrización de heridas por quemaduras*” se alinea con las tendencias actuales en la investigación sobre este tema. Es por ello que, en este trabajo, se propone utilizar PLA como polímero base para la fabricación del apósito, complementándolo con un compuesto análogo a una secuencia peptídica que promueva la actividad celular, así como un extracto vegetal que aporte propiedades de regeneración del tejido. Esta

coincidencia con las tendencias de investigación indica una dirección prometedora para este estudio.

1.2. Generalidades de la piel.

La piel es el órgano más grande del cuerpo, el cual cubre toda su superficie externa (Wilfredo Lopez-Ojeda & Amarendra Pandey, 2022), representando el 15% del peso total del cuerpo de un adulto (Kanitakis, 2001). Este órgano realiza una amplia variedad de funciones, entre las que se encuentran: protección, termorregulación, sensibilidad, secreción, excreción, funciones inmunológicas y producción de vitamina D (Buendía Eisman et al., 2018), las cuales se describen en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Principales funciones de la piel.

Función	Descripción
Protección	Es la primera barrera del cuerpo humano con el exterior, protegiéndolo de microorganismos, deshidratación, luz ultravioleta (Yousef, Alhajj, Fakoya, & et al, 2024).
Termorregulación	Aumenta y reduce la temperatura de la piel mediante procesos de vasodilatación y vasoconstricción, además de la secreción de sudor en casos de calor exterior extremo. (Buendía Eisman et al., 2018b)
Sensibilidad	Contiene receptores sensoriales que permiten sentir dolor, temperatura, tacto y presión. (Yousef, Alhajj, Fakoya, & et al, 2024)(Buendía Eisman et al., 2018b)
Secreción	La piel secreta productos como sebo, sudor y feromonas y ejerce importantes funciones inmunológicas al secretar sustancias bioactivas como las citocinas. (Yousef, Alhajj, Fakoya, & et al, 2024)
Excreción	Si bien, no es el órgano cuya función principal sea eliminar desechos, permite la eliminación de sustancias a través del sudor como son urea, amoníaco, cortisol, entre otros (Baker & Wolfe, 2020)
Funciones inmunológicas	Los queratinocitos, los cuales son células presentes en la epidermis, intervienen las actividades inmunológicas, ya sea matando directamente a patógenos invasores o comunicándose con las células inmunitarias (Piipponen et al., 2020; Buendía Eisman et al., 2018b).

Producción de vitamina D	En la piel se inicia el proceso bioquímico que involucra la producción de la vitamina D, esencial para la absorción de calcio y un metabolismo óseo normal. (Yousef, Alhajj, Fakoya, & et al, 2024; Buendía Eisman et al., 2018b)
---------------------------------	---

1.2.1 Capas de la piel

La piel está conformada por tres capas principales (Figura 1.4): epidermis, dermis e hipodermis. Siendo la capa externa la epidermis, constituida principalmente de células llamadas queratinocitos (Buendía Eisman et al., 2018; Piipponen et al., 2020). Enseguida se encuentra la membrana basal, encargada de separar la epidermis de la siguiente capa, llamada dermis cuyas células constitutivas son principalmente los fibroblastos. La capa debajo de la dermis es la hipodermis también conocida como tejido celular subcutáneo, la cual está constituida principalmente de grasa (Buendía Eisman et al., 2018).

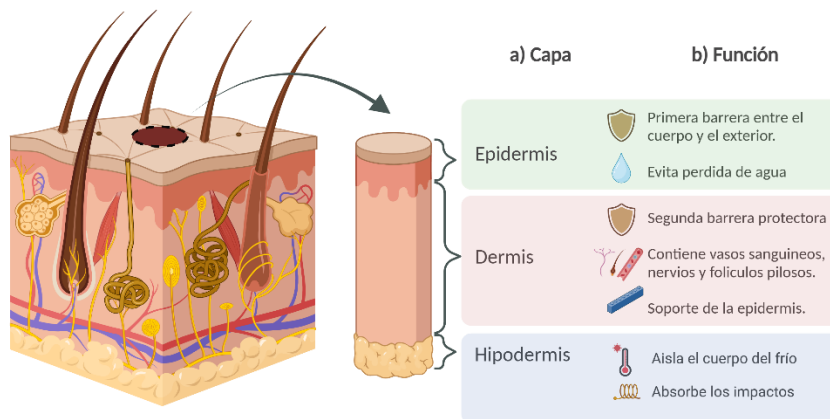


Figura 1.4. Representación de las capas de la piel y sus funciones. Creado en <https://BioRender.com>

1.2.1.1. *Epidermis*

La epidermis es la capa más externa de la piel cuyo grosor varía según la zona del cuerpo donde se mida. En los párpados, su grosor es de aproximadamente 0.03mm, mientras que en las plantas de los pies y las palmas de las manos puede alcanzar hasta 1.5mm (Barbieri et al., 2014). Esta capa no contiene vasos sanguíneos, dependiendo completamente de la dermis para su suministro de nutrientes mediante la membrana basal. La función principal de la epidermis es como barrera física y biológica entre el exterior y el cuerpo, además de evitar la pérdida de agua y mantener la homeostasis interna (Sandra Lawton, 2019).

Las células que componen esta capa son las células Langerhans, las células de Merkel, melanocitos y los queratinocitos, siendo estos últimos las células principales representando el 90% del total de la población celular (Barbieri et al., 2014). Las células de Langerhans forman parte del sistema inmunológico y están constantemente en busca de antígenos para atraparlos y presentarlos a los linfocitos. Las células de Merkel están estrechamente relacionadas con la sensibilidad, especialmente en áreas del cuerpo como las palmas de las manos, las plantas de los pies y los genitales (Sandra Lawton, 2019). Los melanocitos son las células encargadas de sintetizar las melaninas que dan color a la piel, pelos y ojos (Buendía Eisman et al., 2018). Los queratinocitos son los ejecutores del proceso de re-epitelización, contribuyendo en la contracción de las heridas junto a los fibroblastos además de participar activamente en las respuestas inmunitarias del cuerpo (Piipponen et al., 2020), transportar agua y urea, recibir melanina de los melanocitos y controlar la permeabilidad del agua (Abdo et al., 2020).

1.2.1.2. *Dermis*

La dermis es la segunda capa que conforma la piel, teniendo un espesor 20 a 30 veces mayor que la epidermis (Buendía Eisman et al., 2018). En esta se albergan plexos vasculo-nerviosos y sirve de sostén para la epidermis. Su estructura está conformada principalmente por fibras de colágeno, fibras elásticas, capilares y vasos sanguíneos (Barbieri et al., 2014). También contiene folículos pilosos y glándulas sudoríparas (Gnatowski et al., 2023). Sus principales funciones son la amortiguación de los órganos más profundos contra lesiones mecánicas, nutrición a la epidermis, la cicatrización de heridas y protección, funcionando como una segunda barrera. (Barbieri et al., 2014).

Las células presentes en la dermis son fibroblastos, macrófagos, mastocitos y células inflamatorias infiltrantes (Barbieri et al., 2014; Gnatowski et al., 2023). Los fibroblastos son el principal tipo de célula que conforma esta capa, cuya función es básicamente sintetizar colágeno, elastina y gel viscoso dentro de la dermis y, en general, los elementos del tejido conectivo dérmico, fibras y sustancias fundamentales o sus precursores que conforman la matriz extracelular (Barbieri et al., 2014; Buendía Eisman et al., 2018). Los macrófagos tienen un papel clave en la captura de patógenos, y durante el proceso de cicatrización son los encargados de eliminar los residuos y modular la respuesta inmunitaria. Mientras que los mastocitos son responsables de la modulación de las respuestas inflamatoria e inmunitarias, sintetizando una amplia gama de productos que inducen la primera y reclutando neutrófilos para la segunda. Por último, las células inflamatorias infiltrantes son aquellas que se infiltran como respuesta a un estímulo inflamatorio,

algunas de éstas son: neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas (Barbieri et al., 2014).

1.2.1.3. Hipodermis

La hipodermis, también conocida como tejido celular subcutáneo es la tercera capa, encontrándose debajo de la dermis. Está constituida por adipocitos que son células que se encargan de fabricar y almacenar grasa ((Buendía Eisman et al., 2018). Su principal función es proporcionar un soporte estructural a la piel, aislar el cuerpo del frío y ayudar a absorber los impactos (Barbieri et al., 2014).

1.2.2. Proceso de regeneración de la piel.

Una lesión se define como una ruptura en la continuidad anatómica de un tejido bajo la influencia de diferentes factores, ya sean mecánicos, químicos o térmicos (Gnatowski et al., 2023). Después de que se genera una lesión en la piel (el tejido), ésta debe restaurarse rápidamente para mantener sus funciones (Cañedo-Dorantes & Cañedo-Ayala, 2019). Este proceso de cicatrización consiste en remplazar los tejidos desvitalizados, la matriz extracelular dañada y las células muertas, por tejidos y células nuevas (Kordestani, 2019). La cicatrización normal se divide en tres fases: homeostasis-inflamación, proliferación y maduración-remodelación (Cambronero Ulate et al., 2022; Cañedo-Dorantes & Cañedo-Ayala, 2019; Wang et al., 2018). Algunos autores consideran a la homeostasis e inflamación como fases separadas (Kordestani, 2019).

1.2.2.1. *Primera fase: Homeostasis e inflamación.*

Esta primera fase inicia segundos después de que se generó la lesión y tarda aproximadamente 72 horas (Cañedo-Dorantes & Cañedo-Ayala, 2019). Como consecuencia de la pérdida de la integridad del tejido se genera el sangrado que llena la herida y los componentes de la matriz extracelular migran a la sangre. En respuesta, se genera una agregación plaquetaria y se activa el factor XII, formando un coágulo inicial conformado de fibrina el cual se encarga de detener el sangrado y prevenir la invasión microbiana, llevándose a cabo el proceso de homeostasis. Después de la generación de este coágulo, se activa la fibrinólisis que se encarga de impedir la extensión de éste y degradarlo. Durante el proceso de inflamación se genera una vasodilatación, facilitando el paso de plasma y células inflamatorias hacia el lugar de la lesión (Cambroner Ulate et al., 2022; Kordestani, 2019). La primera célula en aparecer es el neutrófilo, encargado de limpiar los restos del tejido dañado y fagocitar bacterias, promoviendo un entorno apropiado para que se lleve a cabo la cicatrización (Cambroner Ulate et al., 2022; Wang et al., 2018). Durante el segundo o tercer día, después de la lesión, los macrófagos hacen su aparición finalizando esta primera fase. Los macrófagos son los encargados de la eliminación de las bacterias y desechos, además de promover la proliferación de fibroblastos, angiogénesis y migración de queratinocitos. También ayudan a eliminar neutrófilos, lo que genera una detención de los estados de inflamación prolongada (Cambroner Ulate et al., 2022).

1.2.2.2. *Segunda fase: Proliferación.*

La fase de proliferación comienza aproximadamente al cuarto día, después de la lesión, y dura entre días y semanas (Cambronero Ulate et al., 2022). Esta fase se caracteriza por la acumulación de una gran variedad de células y tejido conectivo con el objetivo de la generación de tejido de granulación en el espacio de la lesión. Varios tipos de citoquinas y factores de crecimiento se encargan de mediar este proceso. Durante la proliferación, el coágulo formado previamente es remplazado por una matriz extracelular conformada por colágeno, elastina, glicosaminoglicanos, ácido hialurónico y otras proteínas fibrosas (Cambronero Ulate et al., 2022; Kordestani, 2019; Wang et al., 2018) Los fibroblastos son células cruciales durante esta fase, ya que son los responsables de la producción de elastina, colágeno y la organización de la matriz extracelular para formar una cicatriz inmadura desorganizada. (Cambronero Ulate et al., 2022; Kordestani, 2019).

1.2.2.3. Tercera fase: Maduración y remodelación.

La fase de remodelación es la más larga del proceso de cicatrización, con una duración de entre 21 días a un año (Kordestani, 2019). El proceso de maduración consiste en reorganizar los depósitos de colágeno de la cicatriz antes formada, convirtiéndolo en una estructura organizada y entrelazada. Uno de los mecanismos característicos en esta fase es la degradación gradual de la matriz extracelular abundante y del colágeno tipo III (colágeno inmaduro de la fase de proliferación) y formación del colágeno tipo I (colágeno con arreglo definido que le confiere las características mecánicas de la piel sin herida). Por otro lado, las células que entraron en la fase inflamatoria son marcadas para su muerte

(apoptosis) (Cambroner Ulate et al., 2022). Los fibroblastos una vez que han depositado suficiente colágeno, se diferencian en miofibroblastos, ayudando a disminuir el área de la herida debido a los múltiples puntos de conexión de éstos con las fibras de colágeno (Gushiken et al., 2021). En esta fase, el colágeno gana aproximadamente el 20 % de su fuerza de tracción inicial en la tercera semana y alcanza el 80 % después de 12 semanas. La fuerza de tracción máxima del tejido cicatricial es aproximadamente el 80 % de el de la piel sana normal (Kolarsick et al., 2011)).

1.3 Quemaduras

Una quemadura es una lesión causada por traumatismos físicos, químicos o biológicos, que generan una desnaturalización de las proteínas y conduce a una alteración superficial o destrucción total de los tejidos implicados (Jiménez Rocío & García Francisco, 2018). La profundidad de la lesión está relacionada directamente con la intensidad y el tiempo de contacto de la fuente causante con el tejido en cuestión (Bolgiani et al., 2019). Además de la naturaleza y el alcance de las lesiones, el tipo y la cantidad de microorganismos que colonizan la herida influyen en el riesgo de una infección en ésta.

1.3.1 Clasificación de las quemaduras.

Existen varias formas de clasificar las quemaduras, pero las más utilizadas son con base en la profundidad, la superficie corporal afectada y el origen de la

quemadura (Gnatowski et al., 2023). La clasificación con base en la profundidad se da por grados, ésta considera cuatro niveles: primer grado, segundo grado, tercer grado y cuarto grado (Cárdenas & Gonzaga Jaya, 2022; Gnatowski et al., 2023; Norman et al., 2017). En el caso de la clasificación según la superficie corporal afectada, se considera grave cuando esta superficie es mayor al 15%, este porcentaje se determina utilizando diversos métodos, siendo los más utilizados los de Lund Browder, la regla de la palma de la mano y la regla de los 9 (Jiménez Rocío & García Francisco, 2018). La tercera clasificación se divide en cuatro fuentes principales: calor, eléctricas, químicas y por radiación, esta última incluye quemaduras por los rayos del sol (Gnatowski et al., 2023).

1.3.1.1 Clasificación por grados o profundidad.

La clasificación por grados (Figura 1.5) considera cuatro niveles de quemaduras: primer grado (o superficiales), segundo grado (superficiales y profundas), tercer grado (denominadas hipodérmicas) y cuarto grado (de espesor total) (Cárdenas & Gonzaga Jaya, 2022; Gnatowski et al., 2023).

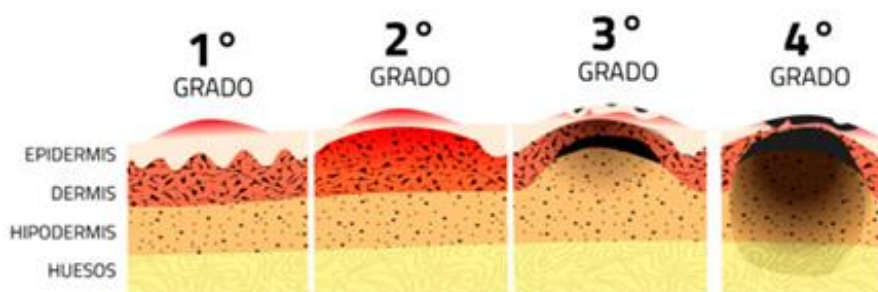


Figura 1.5 Clasificación de las quemaduras por grados. (Clasificación de Quemaduras, 2021).

Las quemaduras de primer grado afectan únicamente a la epidermis generando un enrojecimiento de esta y una sensación de dolor intensa debido a la irritación de las terminaciones nerviosas presentes en esta capa, su tiempo estimado de curación es de 5 a 7 días (Bolgiani et al., 2019).

Las de segundo grado se puede subclasificar como superficiales de espesor parcial y profundas de espesor parcial. Las superficiales de espesor parcial afecta a la epidermis y a algunas células de la capa más superficial de la dermis, su curación se lleva a cabo entre los 10 y 15 días; son dolorosas y el área de la lesión suele estar enrojecida, hinchada y tener ampollas (Bolgiani et al., 2019). En el caso de las quemaduras profundas de espesor parcial tanto la epidermis como la capa más superficial de la dermis se ven totalmente afectadas, ocasionando la destrucción parcial de las terminaciones nerviosas, y por ende una disminución en la sensibilidad de la región afectada (Jeschke et al., 2020). Este tipo de quemaduras presenta una coloración rosada con sectores más blanquecinos y formación de úlceras. Si no hay ninguna complicación, como una infección, el proceso de cicatrización puede tardar 3 semanas, en caso de que existiera alguna complicación esta puede no curar y complicar la lesión (Bolgiani et al., 2019; *Clasificación de Quemaduras*, 2021).

Por otro lado, en las quemaduras de tercer grado se observa una coloración marrón o negro y una apariencia acartonada. Se presenta alteración total de la dermis y epidermis, llegando a penetrar la capa más interna de la piel que es la hipodermis. Esto significa una desaparición de los elementos nerviosos lo que justifica la insensibilidad de la zona afectada (Bolgiani et al., 2019).

Las quemaduras de cuarto grado implican una lesión que llega a penetrar tejidos más profundos como músculos o huesos, adquiriendo una coloración negra y generalmente ocasionando pérdida del área quemada (Bolgiani et al., 2019; Gnatowski et al., 2023; Jeschke et al., 2020).

Usualmente en el caso de las quemaduras superficiales y de espesor parcial su curación no requiere de alguna intervención quirúrgica, pero en el caso de las quemaduras de mayor gravedad es necesario un tratamiento cuidadoso que incluye apósitos antimicrobianos, tópicos y/o cirugía (Jeschke et al., 2020).

1.3.1.2 Clasificación según el área superficial afectada.

Otra de las clasificaciones de las quemaduras es con base en la superficie corporal afectada (SCQT), donde a mayor extensión, la gravedad de la quemadura aumenta. Para la estimación de la SCQT se utilizan varios procedimientos, entre los que se encuentran: la regla de los 9, la regla de la palma de la mano (Bolgiani et al., 2019; *Úlceras Fuera*, 2020).

La regla de los 9 consiste en adjudicar valores de 9% o múltiplos de 9 a los distintos segmentos corporales, como se muestra en la Figura 1.6 (Bolgiani et al., 2019).

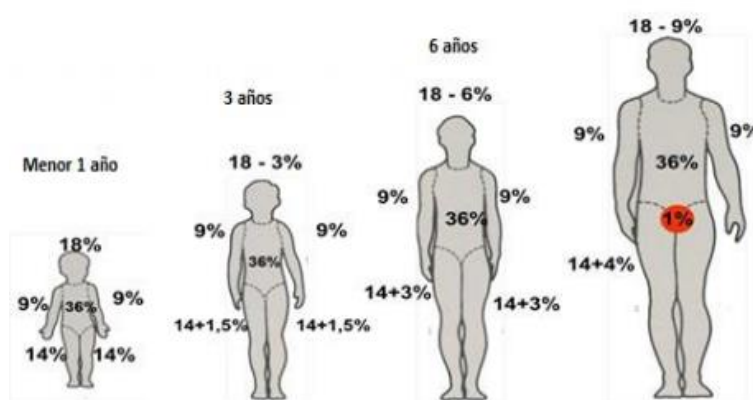


Figura 1.6. Regla de los 9 para calcular la extensión de las quemaduras.

Por otro lado, la regla de la palma de la mano, es un instrumento de valoración rápida para calcular el % de SCTQ, donde se toma como referencia la palma de la mano del paciente, y la superficie que se puede cubrir de esta manera corresponde al 1% de SCQT (Úlceras Fuera, 2020).

1.3.1.3. Determinación de la gravedad de una quemadura.

La gravedad de una quemadura se estima con base en su profundidad, extensión y zona, clasificándose en leves, moderadas y graves. En la Tabla 1.2 se muestran la gravedad de la quemadura en función de la profundidad y % SCQT de ésta.

Tabla 1.2. Criterios para la determinación de la gravedad de una quemadura.

Gravedad	Criterios
Quemadura leve	15% SCQT de primer o segundo grado en adultos 10% SCQT de primer o segundo grado en niños 2% SCQT de tercer grado en niños o adultos (que no afecten ojos, orejas, cara o genitales)
Quemadura moderada	15-25% de SCQT de segundo grado en adultos 10-20% de SCQT de segundo grado en niños 2-10% de SCQT de tercer grado en niños o adultos (que no afecten ojos, orejas, cara o genitales)
Quemadura mayor	>25% de SCQ de tercer grado en adulto >20% de SCQ de segundo grado en niños >10% de SCQ de tercer grado en niños o adultos Quemaduras de segundo y tercer grado que involucren ojos, oídos, orejas, cara, manos, pies, articulaciones principales, periné y genitales Todas las lesiones inhalatorias con o sin quemaduras Quemaduras eléctricas Quemaduras químicas en áreas como cara, párpados, orejas, manos,

1.3.2. Tratamientos para quemaduras

Existen diferentes tipos de tratamientos para quemaduras como injerto de piel, aplicación de formulaciones tópicas y el uso de recubrimientos o de sustitutos de piel. El tipo de tratamiento a utilizar depende del tamaño y tipo de quemadura. En el caso de quemadura de primer grado, normalmente no se requiere de ningún tratamiento especial, salvo el enfriamiento inmediato de la zona quemada. Por otro lado, para quemaduras más graves de segundo y tercer grado es necesaria una hospitalización y el uso de apósitos y/o la aplicación de injertos o sustitutos de piel (Gnatowski et al., 2023).

1.3.2.1 Injertos de piel.

El tratamiento mediante el injerto de piel consiste en utilizar pequeñas porciones de piel procedentes del mismo paciente (autoinjertos), de un donador (aloinjertos) o de algún animal (xenoinjertos), y colocarlas en la zona quemada. El uso de autoinjertos es ideal cuando el área de la quemadura es menor al 35% debido a su alta biocompatibilidad, generando una recuperación de la quemadura rápida y total. Sin embargo, para quemaduras más grandes no es aplicable, debido a que la superficie de donde se puede extraer la porción de piel a utilizar es limitada (Bazualdo Fiorini et al., 2023). En este caso es preferible utilizar aloinjertos, y dependiendo de la biocompatibilidad entre el donador y el paciente, el injerto puede ser permanente o utilizado temporalmente únicamente como recubrimiento.

Otra opción es el uso de lo xenoinjertos, generalmente provenientes de cerdos o peces, únicamente como recubrimientos temporales (Gnatowski et al., 2023). Este tipo de terapias en general tiene como desventajas la posibilidad de cicatrices, una curación dolorosa, posibilidad de infección cruzada y rechazo inmunológico del tejido trasplantado (Gushiken et al., 2021).

1.3.2.2 Sustitutos de piel.

El uso de sustitutos de la piel consiste en utilizar un grupo de materiales heterogéneos para cubrir la herida ayudando a que cierre. Su función es remplazar de forma temporal o permanente a la piel (Gnatowski et al., 2023). Las principales desventajas de este tipo de tratamientos es su alto costo y la posibilidad de rechazo tisular (Gushiken et al., 2021).

1.3.2.3 Formulaciones tópicas.

Un tratamiento tópico se puede definir como la aplicación de un medicamento formulado en la piel. Entre las formulaciones tópicas se encuentran las cremas, geles, emulsiones, ungüentos, pastas, suspensiones, lociones, espumas y aerosoles, principalmente. Su fácil aplicación la convierte en uno de los tratamientos más utilizados para el tratamiento de quemaduras. Sin embargo, tiene como desventajas la posibilidad de molestias, irritación de la piel y reacciones alérgicas (Gushiken et al., 2021).

1.3.2.4 Apósitos.

El objetivo principal de los apósitos es proteger la zona lesionada de agentes externos y traumatismos mecánicos, reduciendo el riesgo de infecciones y acelerando el proceso de curación. En el pasado los apósitos únicamente mantenían la herida seca y removían los exudados. Sin embargo, en la actualidad se ha demostrado que mantener un ambiente cálido y húmedo promueve la aceleración de la cicatrización (Gushiken et al., 2021). El mantener un ambiente húmedo mejora las tasas de proliferación celular curativas y reduce la multiplicación de células inflamatorias, además reduce el dolor, la formación de cicatrices y las infecciones. Como consecuencia de estos descubrimientos, los polímeros se utilizaron en un principio como películas oclusivas. A partir de los años 70, se utilizaron películas de poliolefina sencillas gracias a sus propiedades de barrera, transparencia, facilidad de esterilización y un coste relativamente bajo (Gnatowski et al., 2023). El apósito ideal debe mantener la humedad en el lecho de la quemadura, debe ser capaz de absorber el exceso de exudado sin resecar y su retirada no debe ser traumática (no debe generar traumatismo en el tejido). Una de las principales desventajas de este tipo de tratamientos es la dificultad de adaptabilidad a determinadas zonas (cara, manos, pie) o en localizaciones de gran movilidad (Miranda Altamirano, 2020). En busca de resolver estas problemáticas la tendencia actual de investigación es la búsqueda de materiales compuestos híbridos basados en polímeros naturales y sintéticos biocompatibles. Para crear diferentes composiciones de materiales híbridos, es necesario seleccionar un material base (colágeno, celulosa, etc.) y compuestos biológicamente activos

(nanopartículas metálicas, extractos de plantas, compuestos individuales) con actividad biológica individual probada (Tseomashko et al., 2021).

1.4. Polímeros en la fabricación de apósitos para quemaduras.

Diferentes tipos de polímeros sintéticos y naturales han sido utilizados para la fabricación de apósitos para heridas. Los polímeros naturales se utilizan ampliamente en la medicina regenerativa debido a su biodegradabilidad, biocompatibilidad y similitud con la matriz extracelular. Entre este tipo de polímeros están: colágeno, quitosano, ácido algínico, almidón, gelatina, celulosa bacteriana, fibroína de seda, queratina, poli (ácido láctico) (PLA), entre otros. Por otro lado, algunos polímeros sintéticos se utilizan ampliamente para la fabricación de apósitos, debido a sus propiedades fisicoquímicas y biocompatibilidad (Noor et al., 2022). Algunos ejemplos de polímeros sintéticos utilizados para esta aplicación son poli (alcohol vinílico) (PVOH), poliuretano (PU), poli (óxido de etileno) (PEO), policaprolactona (PCL), entre otros (Agarwal et al., 2008; Noor et al., 2022). En la Tabla 1.3 se muestran algunas de las características de los polímeros más utilizados en la fabricación de apósitos para quemaduras.

Tabla 1.3. Características de los polímeros más utilizados en la fabricación de apósitos.

Polímero	Ventajas	Desventajas	Solventes	Referencias
Quitosa o	Baja toxicidad, biocompatibilidad, biodegradable, promotor de hemostasia, efectos antibacteriales	Escasa solubilidad, pobres propiedades mecánicas	Ácido acético (90%)	(Abd El-Hack et al., 2020; Gholipour-Kanani et al., 2014; Hardiansyah et al., 2015; Liu et al., 2024)
PLA	Biocompatible, buenas propiedades mecánicas, biodegradable, propiedades antiinflamatorias, funciones humectantes, permeabilidad al vapor y al oxígeno, bajo costo	Baja afinidad celular e hidrofobicidad.	Triclorometano/acetona (Liu et al., 2024), Cloroformo (Hardiansyah et al., 2015)	(Hardiansyah et al., 2015; Liu et al., 2024; Miranda Altamirano, 2020)
PVOH	Alta hidrofiliidad, biocompatibilidad, resistencia química, propiedades físicas.	No posee propiedades hemostáticas ni antibacteriales, tiene baja elasticidad.	Agua	(Prete et al., 2023; Sorkhabi et al., 2022)
PCL	Biodegradable, biocompatibilidad, bajo costo, buenas propiedades mecánicas	Hidrofóbico, no posee propiedades bioactivas.	Cloroformo y dimetilformamida (DMF)	(Hosseinkazemi et al., 2015)
PEO	Biodegradable, alta solubilidad en agua, baja toxicidad.	No posee propiedades hemostáticas ni antibacteriales, tiene baja elasticidad	Ácido acético	(Kharat et al., 2021)

1.5. Ácido arginil-glicil-aspártico (RGD) como aditivo en apósitos.

El péptido RGD está conformado por los aminoácidos arginina, glicina y ácido aspártico, como se muestra en la Figura 1.8. La principal función de este péptido es facilitar la adhesión mediante la unión con las integrinas, receptores ubicados en la superficie celular que participan en procesos biológicos como respuestas inmunes, proceso de cicatrización y angiogénesis. Integrinas específicas al RGD se anclan a este péptido, permitiendo la adhesión y comunicación celular (Javid et al., 2024). Además, se ha reportado que el uso de RGD incrementa la densidad y la migración celular en el microambiente (Kumar Verma & Raina, 2014).

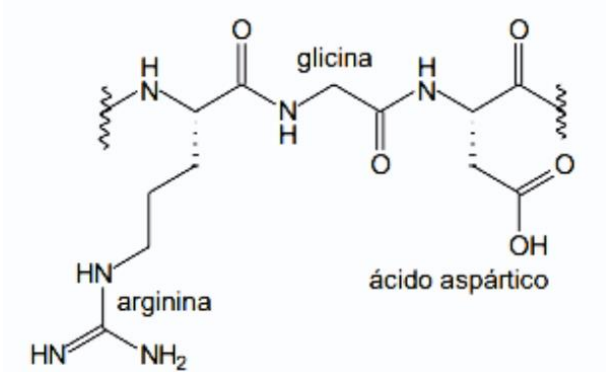


Figura 1.8. Estructura del ácido arginil-glicil-aspártico (RGD).

1.5.1. Molécula análoga al RGD.

Debido al impacto de este péptido en la actividad celular y por ende en el proceso de cicatrización, se han desarrollado moléculas análogas al RGD, las cuales buscan imitar o potenciar su capacidad de unión a las integrinas, pero con

ventajas adicionales como: mayor afinidad y estabilidad química, resistencia a la degradación enzimática, afinidades específicas a ciertos subtipos de integrinas o así como procesos de síntesis más sencillos y de menor costo (Fernandez et al., 2018; Shahane et al., 2023)

Actualmente existen varios trabajos de investigación enfocados en la síntesis de moléculas análogas al RGD, entre esto se encuentra Dai et al., (2025) quien diseñó y sintetizó copolímeros aleatorios que imitan al RGD a partir de la polimerización rápida y controlable de N-carboxianhídridos a gran escala, proporcionando una estrategia prometedora para promover la adhesión celular y la regeneración tisular. Por otro lado, Nora Guadalupe Ramírez González, (2023) sintetizó una molécula análoga al RGD, a partir de urea y ácido cítrico, como promotor de adhesión celular y, por ende, de la regeneración tisular, siendo esta una alternativa sencilla y económica.

1.6. Extractos de plantas como aditivos en apósitos.

Las plantas medicinales pueden actuar como agentes cicatrizantes debido a su amplia variedad de componentes químicos, como alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas, ácidos grasos y compuestos fenólicos, que tienen el potencial de mejorar el proceso de curación de las heridas por quemaduras. El bajo costo, la disponibilidad y los menores efectos secundarios son otras ventajas de los activos naturales (Bahramsoltani et al., 2014).

1.6.1 *Caléndula officinalis* (CO).

La planta *Calendula Officinalis* (Figura 1.9) también conocida como botón de oro, maravilla; entre otros, pertenece a la familia de las Asteraceae. Esta planta es utilizada para el tratamiento de heridas, úlceras y cicatrices debido a sus varias propiedades bioactivas como son: antidiabéticas, analgésicas, antiinflamatorias y antiulcerosas. Además de poseer propiedades antisépticas y antibacteriales (Rezai et al., 2023). Estas propiedades se deben a la presencia de compuestos con propiedades biológicas como carotenoides, flavonoides, terpenoides, saponinas, esteroides, ácidos fenólicos, lípidos, entre otros (Ashwlayan et al., 2018). Específicamente, los compuestos químicos responsables de la propiedad antiinflamatoria son los flavonoides y carotenoides (Rezai et al., 2023).



Figura 1.9. Imagen de la planta Calendula Officinalis (Logan Hailey, 2024)

Debido a estas propiedades varios investigadores han incursionado en el uso de esta planta como aditivo para promover la cicatrización de heridas, por ejemplo, Hosseinkazemi et al., (2015), obtuvo nanofibras de PCL las cuales fueron funcionalizadas con CO logrando así un incremento en la interacción de estas fibras con las células, aumentando su biocompatibilidad y por ende promoviendo su posible aplicación como recubrimiento para la cicatrización de heridas.

1.6.2. *Datura Stramonium* (DS).

D. Stramonium es una planta nativa de México, comúnmente conocida como toloache. Además de su presencia en México, también se encuentra en otros lugares de América, Europa, Asia y Sudáfrica (Adam & Idris, 2017; Mondragón Juana & Vibrans Heike, 2009). Posee flores con forma de trompeta, usualmente blancas o violetas, su fruto es una capsula ovoide con púas verdes que guarda en su interior numerosas semillas de color oscuro (Figura 1.10), y tiene un olor característico desagradable (Brocca & Kuri, 2000; Otuokere et al., 2020).



Figura 1.10. Imagen de la planta Datura Stramonium (DS) (Andrew Haynes, 2014)

Entre los compuestos químicos presentes en la planta se encuentran: alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos. Estos son responsables de las propiedades analgésicas y antiinflamatorias debido a su habilidad de suprimir la producción de mediadores químicos responsables de la estimulación de nociceptores (receptores sensoriales especializados en la detección de estímulos dolorosos) y la inducción de dolor o inflamación. Así como de su actividad antioxidante, debido a su capacidad de eliminar radicales libres, lo que ayuda en la prevención del daño celular (Gaire & Subedi, 2013; Sharma et al., 2021).

Si bien, todas las propiedades mencionadas anteriormente muestran un gran potencial de bioactivo, DS es mayormente reconocida por sus efectos tóxicos, los cuales son principalmente atribuibles a la presencia de alcaloides tropánicos como la atropina y la escopolamina. El consumo de grandes dosis, ya sea oral o sistémica, de esta planta genera problemas en el sistema nervioso central y puede ocasionar síntomas anticolinérgicos como confusión, alucinaciones, amnesia y comportamientos anormales (Sharma et al., 2021). Sin embargo, no existe mucha información al respecto de efectos adversos contra la salud al utilizarlo como tópico o ungüento.

En el estudio de Anbumani et al. (2024), se desarrolla un apósito a base de PVOH y extracto etanólico de hojas de DS (5 g de hojas en 50 ml de etanol), el cual promueve la cicatrización de las heridas “in vitro”, lo que sugiere su potencial aplicación como apósito para quemaduras.

Si bien el uso de DS exhibe resultados prometedores, es necesario evaluar los posibles efectos citotóxicos de dicho extracto, así como algún posible efecto nocivo contra la salud. Además de evaluar desempeño como agente cicatrizante comparado con otras plantas ya estudiadas.

1.7. Técnicas de fabricación de apósitos poliméricos

Existen diversas técnicas para la fabricación de apósitos poliméricos entre las que se encuentran: giro presurizado, hilado húmedo, electrohilado, entre otros.

1.7.1 Hilado por giro presurizado

El hilado presurizado es una tecnología escalable de formación de fibras mediante la combinación de fuerza centrífuga y soplado de gas. Como ventaja tiene que la tasa de producción de fibras es mayor comparada con la del electrohilado típico de una sola aguja (Y. Dai et al., 2023; Tseomashko et al., 2021). Tiene como desventaja la complejidad del equipo, costos operativos altos debido al manejo de presiones adecuadas y el hecho de tener que utilizar un gas a altas presiones. Esto último también implica ciertos riesgos de seguridad (Mehta et al., 2021).

1.7.2 Hilado húmedo.

El *wet spinning* o hilado húmedo implica disolver el polímero en un solvente adecuado y luego formar las fibras mediante su extrusión en un baño de

coagulación, provocando la precipitación de la fibra y su posterior solidificación a medida que emerge (Noor et al., 2022). Este proceso es particularmente útil para polímeros que no pueden ser procesados por fusión debido a sus altas temperaturas de fusión o aquellos que no son solubles en solventes volátiles. Aunque el hilado húmedo es un proceso de fabricación en masa más rápido (7–150m/min) que el electrohilado, requiere pasos adicionales para lavar las fibras y eliminar coagulantes e impurezas. (Rohani Shirvan et al., 2022).

1.7.3 Electrohilado.

El electrohilado es una técnica utilizada para producir fibras poliméricas mediante la aplicación de fuerzas electroestáticas. Esta técnica permite obtener fibras con alta porosidad y una gran relación área-volumen, lo que les otorga un notable potencial en diversas aplicaciones, tales como sistemas de filtrado, ingeniería de tejidos, cicatrización de heridas y liberación controlada de fármacos. En comparación con otros métodos para la fabricación de micro/nanofibras, el electrohilado ofrece un control preciso sobre la morfología y la porosidad de las fibras, e incluso puede imitar la estructura de la matriz extracelular. No obstante, su principal desventaja radica en la dificultad de producir grandes volúmenes de apósitos y nanofibras de manera eficiente (Casasola et al., 2014; Dai et al., 2023; Ma & Rutledge, 2012).

Este proceso consiste en aplicar un campo eléctrico entre la punta de una aguja de jeringa, que contiene una solución del polímero disuelto, y un colector donde

las fibras se depositan. Como resultado de la diferencia de potencial, la solución se carga eléctricamente, y se forma una gota cónica (cono de Taylor) en la punta de la aguja. Cuando las fuerzas eléctricas superan la tensión superficial del líquido, se genera un chorro de polímero que se extiende desde la aguja hasta el colector. Durante su trayecto, el solvente se evapora, lo que permite la formación de las fibras o hilos, los cuales son recogidos en el colector, el mecanismo se muestra en la Figura 1.12 (Bhardwaj & Kundu, 2010; Casasola et al., 2014).

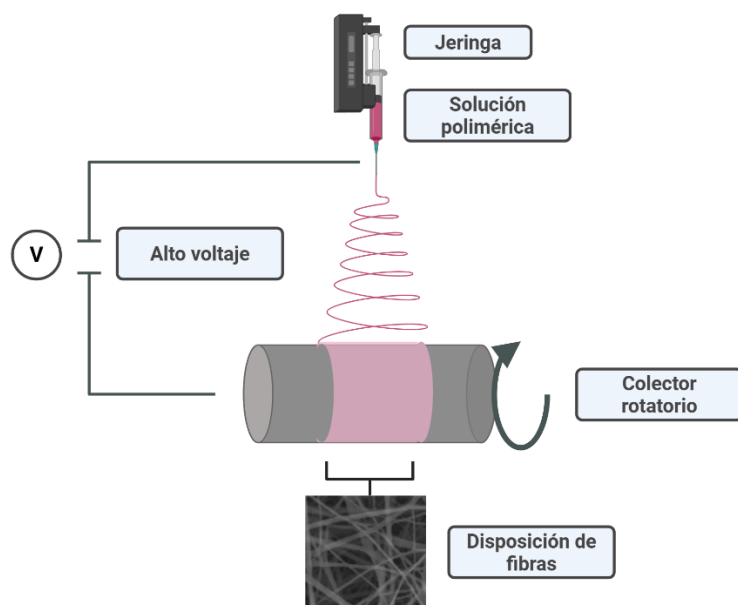


Figura 1.11. Diagrama esquemático del equipo de electrohilado. Creado en <https://BioRender.com>

La morfología y el diámetro de la fibra resultante dependen de varios parámetros, tanto de la disolución utilizada como del equipo. Entre los parámetros

correspondientes a la disolución se encuentran: el tipo de polímero, su peso molecular, el solvente utilizado, la concentración, la viscosidad, la conductividad, entre otros, tensión superficial. Por otro lado, los parámetros correspondientes al equipo son: el voltaje utilizado, velocidad de flujo de la solución, la distancia entre la aguja y el colector. En la Tabla 1.4 se muestra el efecto de cada uno de los parámetros en la fibra resultante (Sorkhabi et al., 2022).

Tabla 1.4. Efecto de los parámetros de la técnica de electrohilado.

Parámetros de la solución		
Parámetro	Efecto	Referencia
Peso molecular		(Bhardwaj & Kundu, 2010)
Concentración		(Bhardwaj & Kundu, 2010; Casasola et al., 2014)
Viscosidad		
Conductividad		
Tensión superficial		
Parámetros del equipo		
Parámetro	Efecto	Referencia
Voltaje		(Sorkhabi et al., 2022 ; Bhardwaj & Kundu, 2010)
Distancia entre colector y aguja		
Velocidad de flujo de la solución		

Capítulo 2. Técnicas experimentales.

En este capítulo se mencionan los reactivos y equipos utilizados para la obtención tanto del apósito polimérico como de los elementos que lo conforman: andamio electrohilado de PLA, extractos (CO y DS) y la síntesis de los SRGDs. Además, se describen las técnicas utilizadas para su caracterización fisicoquímica y evaluación biológica.

2.1. Reactivos químicos utilizados.

En este apartado se mencionan los datos de los reactivos y compuestos utilizados para la obtención y síntesis de los elementos que conforman el apósito polimérico.

2.1.1. Obtención del andamio EH de PLA.

Para la obtención del andamio EH del apósito polimérico se utilizó el poli (ácido láctico) (PLA), CAS 26100-51-6, (DREMEL 3D, Querétaro, México) y como solvente, cloroformo (CHCl_3), $\geq 99.5\%$, CAS 67-66-3, (Sigma Aldrich®, St. Louis, E.U.). Ambos fueron utilizados tal como se recibieron de los proveedores.

2.1.2. Obtención de los extractos CO y DS.

Las plantas medicinales *C. Officinalis* (CO) y *D. Stramonium* (DS) fueron adquiridas del Mercado República Reforma 405A, Centro Histórico, 78000 San Luis Potosí, S.L.P.

Los productos utilizados para la obtención de los extractos acuosos y etanólicos fueron alcohol etílico (C_2H_6O), 96%, CAS 64-17-5, (HYCEL, Edo. de México, México) y agua desionizada. Todos los productos químicos se utilizaron tal como se recibieron de los proveedores.

2.1.3. Síntesis de SRGDs.

Los reactivos utilizados para la síntesis de los SRGDs fueron el ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), (Fermont, Monterrey, Nuevo León, México), urea (NH_2CONH_2), CAS 57-13-6, (Fermont, Monterrey, Nuevo León, México) y agua desionizada. Todos los reactivos fueron utilizados tal cual se recibieron de proveedores.

2.1.4. Obtención de apósito polimérico.

Para la fabricación del apósito polimérico se utilizaron el andamio polimérico obtenido mediante el electrohilado del poli (ácido láctico) (PLA), CAS 26100-51-6, (DREMEL 3D, Querétaro, México) usando cloroformo ($CHCl_3$), $\geq 99.5\%$, CAS 67-66-3, (Sigma Aldrich®, St. Louis, E.U.) como solvente; los extractos de plantas medicinales acuosos y etanólicos de CO y DS; y el SRGD sintetizado.

2.2. Metodología para la obtención del apósito polimérico y los elementos que los conforman.

2.2.1. Metodología para la fabricación de apósitos: PLA mediante EH.

El primer paso para la fabricación del electrohilado fue determinar los parámetros adecuados de concentración, voltaje, flujo, así como la distancia entre aguja y colector del equipo de electrohilado, que den como resultado una membrana donde las fibras no formen aglomeraciones. Para lo anterior, se llevaron a cabo diferentes experimentos variando los parámetros antes mencionados con la finalidad de encontrar aquellos que como resultado generen una estructura conformada por hilos no tejidos y con la menor cantidad de fusiones y gotas, esto para propiciar la actividad celular y a su vez el proceso de cicatrización (Agarwal et al., 2008; Zulkifli et al., 2023). A partir de los resultados obtenidos en estos ensayos preliminares, se seleccionaron las siguientes condiciones para la fabricación del apósito: concentración de PLA al 12% (p/v), voltaje de 20kV, flujo de 2ml/h y distancia entre la aguja y el colector de 15 cm, utilizando el equipo TL-01.

El proceso de fabricación de los apósitos se muestra en la Figura 2.1. El primer paso consistió en disolver PLA en CHCl_3 con una concentración de 12% (p/v). Posteriormente, dicha solución se electrohiló durante 4 h, con los parámetros mencionados anteriormente. Para recolectar las fibras resultantes de la solución se cubrió el colector del equipo con papel aluminio, con la finalidad de facilitar el

manejo posterior a su deposición, sin interrumpir la diferencia de potencial generada por el equipo entre la punta y el colector.

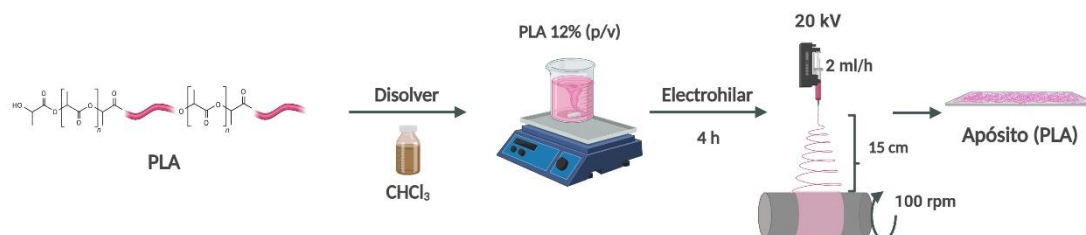


Figura 2.1. Esquematización de procedimiento para la fabricación del electrohilado de PLA. Creado en <https://BioRender.com>

2.2.2. Obtención de extractos de *D. stramonium* y *C. officinalis*.

El procedimiento utilizado para la obtención de los extractos de las plantas medicinales, el cual se esquematiza en la Figura 2.2, consistió en lavar la planta (hojas, semillas, ramas, flores) para posteriormente secar todo el conjunto a una temperatura de 60°C en una estufa Thermo Scientific, PRECISION. Una vez seca, se pesaron 0.8 g de planta, para posteriormente obtener los extractos etanólicos y acuosos.

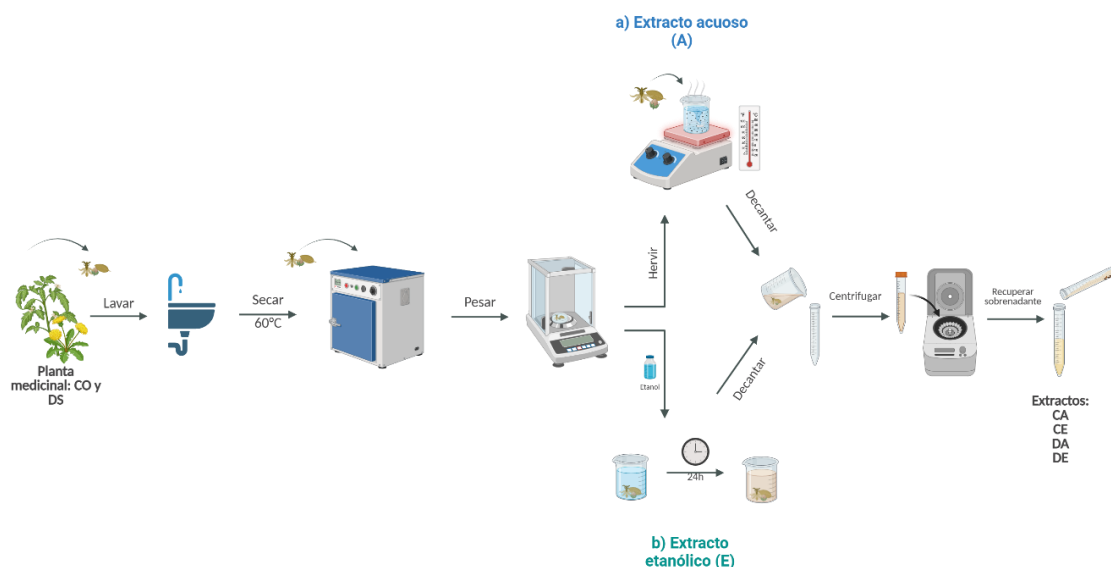


Figura 2.2. Esquematización de procedimiento para la obtención de los extractos (a) acuosos y (b) etanólicos de *D. stramonium* (DA y DE respectivamente) y *C. officinalis* (CA y CE respectivamente). Creado en <https://BioRender.com>

2.2.2.1. Obtención de extractos acuosos de *D. stramonium* y *C. officinalis*.

Para el extracto acuoso, se calentaron 20 ml de agua desionizada a 95°C y una vez alcanzado el punto de ebullición se adicionaron 0.8 g de planta y se dejó agitando durante 5 min, como se muestra en la Figura 2.2 a). Posteriormente, se decantó el extracto en un tubo de centrifugado, para centrifugarlo en el equipo HEMLE Z 206 A, a 3000 rpm durante 15 min, y posteriormente recuperar el sobrenadante, obteniendo así los extractos acuosos tanto de *D. stramonium* (DA) como de *C. officinalis* (CA) (Cortés et al., 2020).

2.2.2.2. Obtención de extractos etanólicos de *D. stramonium* y *C. officinalis*.

Por otro lado, como se observa en la Figura 2.2 b), para la obtención del extracto etanólico, los 0.8 g de planta se agregaron en 20 ml de etanol al 70% y se dejó reposando por 24 h. Pasado este tiempo se decantó el concentrado obtenido en un tubo de centrifugado para posteriormente centrifugar a las condiciones anteriormente mencionadas. Es así como se obtuvieron los extractos etanólicos de *D. stramonium* (DE) y *C. officinalis* (CE).

Los extractos se diluyeron utilizando agua desionizada hasta obtener concentraciones de 20, 30 y 50 $\mu\text{g/ml}$ como se muestra en la Figura 2.3 obteniendo así un total de 12 extractos a evaluar: *C. Officinalis* acuoso a 20 $\mu\text{g/ml}$ (CA20), *C. Officinalis* acuoso a 30 $\mu\text{g/ml}$ (CA30), *C. Officinalis* acuoso a 50 $\mu\text{g/ml}$ (CA50), *C. Officinalis* etanólico a 20 $\mu\text{g/ml}$ (CE20), *C. Officinalis* etanólico a 20 $\mu\text{g/ml}$ (CE20), *C. Officinalis* etanólico a 30 $\mu\text{g/ml}$ (CE30), *C. Officinalis* etanólico a 50 $\mu\text{g/ml}$ (CE50), *D. Stramonium* acuoso a 20 $\mu\text{g/ml}$ (DA20), *D. Stramonium* acuoso a 30 $\mu\text{g/ml}$ (DA30), *D. Stramonium* acuoso a 50 $\mu\text{g/ml}$ (DA50), *D. Stramonium* etanólico a 20 $\mu\text{g/ml}$ (DE20), *D. Stramonium* etanólico a 30 $\mu\text{g/ml}$ (DE30) y *D. Stramonium* etanólico a 50 $\mu\text{g/ml}$ (DE50). Esto con la finalidad de evaluar el efecto de la concentración del extracto en el desempeño del apósito polimérico para la regeneración tisular.

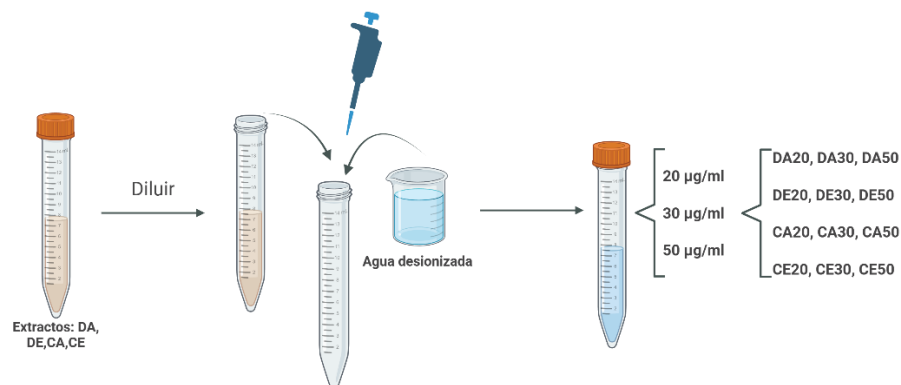


Figura 2.3. Esquematización de procedimiento de obtención de los extractos D. stramonium acuoso (DA) y etanólico (DE), C. officinalis acuoso (CA) y etanólico (CE), en concentraciones de 20 µg/ml, 30 µg/ml y 50 µg/ml. Creado en <https://BioRender.com>

2.2.3. Obtención de la película de PLA con Extractos (PLA/Ext).

Con el fin de obtener los apósitos PLA/Ext, se utilizaron los extractos con mayor porcentaje de viabilidad celular. Se recortaron círculos de 6mm de diámetro de PLA electrohilado, los cuales fueron esterilizados durante 30 min con luz UV a una longitud de onda de 302nm. Dichos segmentos de película se sumergieron en las diluciones de los extractos previamente preparados y se dejó reposar durante 24 h a temperatura ambiente. Pasado dicho tiempo se retiró la película de la solución y se dejó secando durante 24 h a temperatura ambiente, y se esterilizaron con luz UV. Dicho proceso se muestra en la Figura 2.4.

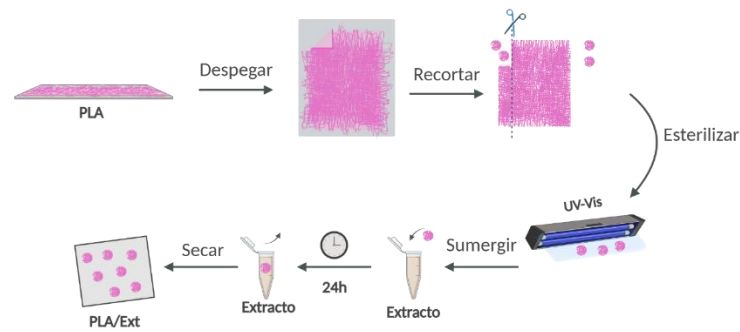


Figura 2.4. Esquematización de la metodología utilizada para la obtención de los apósitos PLA/Ext. Creado en <https://BioRender.com>

2.2.4. Síntesis de la molécula análoga al RGD (SRGD).

La síntesis de los distintos SRGDs tiene como base el trabajo de investigación de Nora Guadalupe Ramírez González (2023) realizado en el grupo de investigación de polímeros del IPICYT; donde se obtuvo el SRGD mediante la reacción de ácido cítrico y urea (1:2 molar) al ser mezclados durante 3h a 50°C. Tomando como base este trabajo, se decidió variar los parámetros de relación la relación molar urea- ácido cítrico (3:1 y 2:1) y la temperatura a la que se lleva a cabo la reacción (50°C y 90°C) como se muestra en la Figura 2.5, obteniendo así cuatro SRGDs: SRGD 2:1 a 50°C, SRGD 2:1 a 90°C, SRGD 3:1 a 50°C, SRGD 3:1 a 90°C.

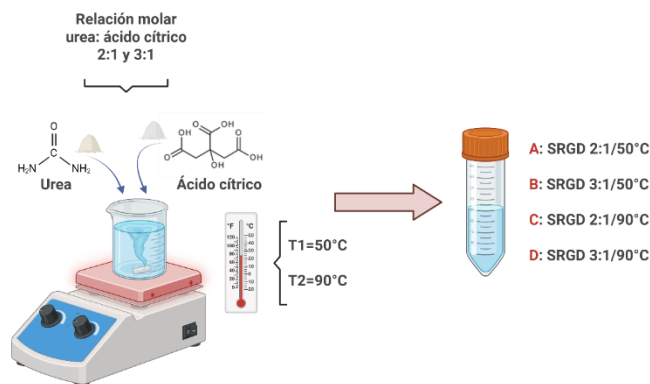


Figura 2.5. Esquematzación de la síntesis de los SRGDs: 2:1/50°C, 3:1/50°C, 2:1/90°C, 3:1/90°C. Creado en <https://BioRender.com>

2.2.5. Obtención de la película de PLA con SRGD (PLA/SRGD).

Para la obtención de los apósitos PLA/SRGD, inicialmente se recortaron círculos de 6mm de diámetro de la película de PLA electrohilado, los cuales se esterilizaron mediante irradiación UV-Vis durante 30 min. Posteriormente, los segmentos se sumergieron en las diferentes soluciones de SRGD y se dejaron en contacto durante 72 horas a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, los apósitos se extrajeron de las soluciones de SRGD y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24 h. El procedimiento descrito se ilustra en la Figura 2.6.

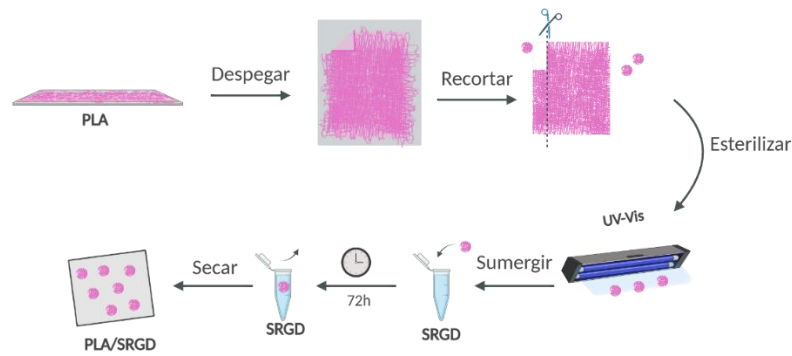


Figura 2.6. Esquematización de la metodología utilizada para la obtención de los apósitos PLA/SRGD. Creado en <https://BioRender.com>

2.2.6. Fabricación de los apósitos PLA/SRGD/Ext.

Para la fabricación del apósito final se utilizó el andamio EH de PLA, el cual se recortó en círculos de 6 mm de diámetro que fueron esterilizados durante 30 min con luz UV, a una longitud de onda de 302 nm. Posteriormente, estos segmentos fueron sumergidos durante 72h en el SRGD con mejor desempeño considerando los resultados de hidrofiliicidad, viabilidad celular y proliferación celular. Transcurrido este tiempo, las membranas se retiraron de las soluciones y se dejaron secar durante 24h a temperatura ambiente. Una vez secas, las muestras se sumergieron durante 24h en los extractos seleccionados, con base en su desempeño en las pruebas biológicas. Finalmente, los apósitos se extrajeron de los extractos y se dejaron secar durante 24h a temperatura ambiente. Dicha metodología se esquematiza en la Figura 2.7.

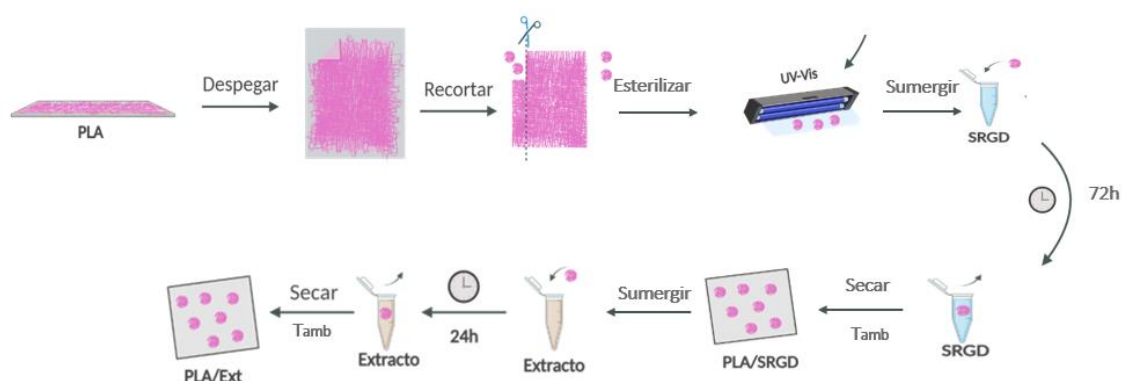


Figura 2.7. Esquematización de la metodología utilizada para la obtención de los apósitos PLA/SRGD/Ext. Creado en <https://BioRender.com>

2.3. Técnicas de caracterización utilizadas.

Las caracterizaciones utilizadas para el análisis de las características morfológicas y químicas, así como propiedades hidrofílicas del andamio polimérico y los elementos que lo conforman se muestran se describen en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Técnicas de caracterización utilizadas

Técnica de caracterización	Propiedad medida	Motivo de uso	Equipo
Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	Vibraciones de enlaces moleculares.	Determinar la presencia de compuestos de interés, a través de grupos funcionales, y determinar posibles interacciones entre los compuestos presentes en el andamio.	IRTracer-100; SHIMADZU
Microscopía óptica	Morfología macroscópica cualitativa	Observar la distribución de las fibras constituyentes del electrohilado, a nivel macroscópico.	SMz800N; Nikon

Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	Morfología microscópica cualitativa.	Observar la distribución de las fibras obtenidas, el tamaño y la posible formación aglomeraciones en el electrohilado.	Quanta 250, FEI
Ángulo de contacto	Ángulo de contacto entre una gota y una superficie	Examinar la interacción del apósito con el agua y el PBS y ver su afinidad hacia éstos.	TL100, Attension

2.3.1. Caracterización por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

Se utilizó la espectroscopía de infrarrojo (FTIR) para la identificación de las especies químicas presentes en los extractos, en los SRGDs y en los apósitos resultantes, mediante el uso de un espectrofotómetro SHIMADZU IRTracer-100, en modo reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros de cada muestra se obtuvieron a temperatura ambiente, en el intervalo de número de onda de 500 a 4000cm⁻¹, con 32 escaneos y una resolución de 4 cm⁻¹.

2.3.2. Caracterización mediante Microscopía óptica.

Se utilizó un microscopio óptico SMz800N; Nikon con un aumento 4X e iluminación artificial con tonalidad blanca, para una primera observación de la distribución de las fibras en los electrohilados resultantes.

2.3.3. Caracterización mediante Microscopía electrónica de barrido (SEM).

La morfología del electrohilado resultante se examinó utilizando un Microscopio Electrónico de Barrido FEI QUANTA 250, en condiciones de bajo vacío, con un

voltaje de 10kV, una presión de 180-190 Pa y un spot de 5. Las muestras analizadas se colocaron en un pin de aluminio, sobre una capa de pintura de plata SEM-Gold/Silver Extender de la marca TED PELLA, INC. y se recubrieron con oro durante 30s a 40 mA, mediante un Cressington 108 auto.

2.3.4. Caracterización por ángulo de contacto.

El ángulo de contacto de los apósitos se evaluó a temperatura ambiente utilizando un goniómetro Theta Lite Biolin Scientific, mediante la técnica de gota sésil. Dichos resultados se analizaron con el software de imagen One Attetion. El procedimiento que se siguió fue, con la ayuda de una jeringa micrométrica, se colocó una gota de agua desionizada sobre la superficie del material, para inmediatamente después capturar las imágenes cada 12s y evaluar el ángulo de contacto mediante la ecuación de Young-Laplace.

2.4. Técnicas para la evaluación biológica utilizadas.

La evaluación biológica del apósito polimérico para quemaduras se realizó mediante las pruebas *in vitro* de citotoxicidad, análisis de irritación, proliferación celular y prueba de *cicatrización in vivo*, las cuales se describen en la Tabla 2.2. Para las pruebas *in vitro* se utilizaron fibroblastos de la línea celular *NIH/3T3* las cuales fueron sembradas a partir de las obtenidas del laboratorio ATCC (American Type Culture Collection). Todas las pruebas biológicas se llevaron a cabo en el laboratorio del CIACyT a cargo de la Dra. Luz Eugenia Alcántara.

Tabla 2.2. Técnicas analíticas para la evaluación del desempeño biológico de los apósitos.

Técnica analítica	Propiedad medida	Motivo de uso	Equipo/ Kits	Normativa
Ensayo de viabilidad celular, <i>MTT</i>	Actividad metabólica/ <i>in vitro</i>	Determinar la biocompatibilidad en términos de proliferación de los fibroblastos en el apósito.	FC Multiskan; Thermo Scientific*	ISO 10993-5
Ensayo de proliferación celular, <i>BrdU Cell Proliferation</i>.	División, aumento y reproducción celular/ <i>in vitro</i>	Determinar si los fibroblastos se reproducen en el apósito.	<i>BrdU Cell Proliferation ELISA KIT</i> ; FC Multiskan ; Thermo Scientific*	ISO 10993-5
Prueba de irritación	Señales de irritación en tejido <i>ex vivo</i>	Observar indicios de irritación causada por los apósitos en un tejido humano <i>ex vivo</i>	La preparación de la muestra se llevó a cabo en el Hospital los Ángeles, San Luis Potosí; Nikon Eclipse CiPOL.	OECD TG 404
Ensayo de cicatrización	Velocidad de cicatrización de una herida/ <i>in vivo</i>	Observar el proceso de cicatrización y la cicatriz generada en una herida <i>in vivo</i>	NA	ISO 10993-6

Para las pruebas *in vitro* realizadas, fue necesario previamente preparar el cultivo celular, por tanto, a continuación, se describen la preparación del medio celular utilizado y el procedimiento general de la obtención del cultivo celular. En caso de

hacer una modificación en dichos procedimientos se hará mención en la descripción de la metodología utilizada.

2.4.1. Preparación del medio para cultivo celular.

El medio de cultivo celular utilizado fue Dulbecco's Modified Eagle Medium (1X) (DMEM), REF 10-013-CV, 500 mL, CORNING, con 10% v/v de suero fetal bovino (SFB), REF 1600-044, GIBCO y 1% v/v de *Penicilin Streptomycin* como antibiótico, REF 15070-063, GIBCO.

2.4.2. Preparación del cultivo celular.

Para el proceso de cultivo celular se recortaron las diferentes muestras de los andamios a analizar en círculos de 6mm de diámetro esterilizados con luz ultravioleta durante 15 min, a una longitud de onda de 302 nm. Posteriormente, se depositaron en una placa de cultivo de 96 pocillos y en cada uno se añadieron 200 µl de medio de cultivo previamente preparado y 10 µl de células NIH/3T3. La placa se introdujo a la incubadora durante 24 h a una temperatura de 37°C y una atmósfera de CO₂ al 5%. Las pruebas se realizaron con tres réplicas de cada andamio y control utilizado para la realizar el análisis estadístico.

En el caso de la preparación del cultivo celular para la evaluación de los extractos se siguió la misma metodología antes descrita, con la excepción de la presencia del andamio polimérico en el pocillo con medio de cultivo y células. Después del periodo de incubación inicial para el crecimiento inicial, los extractos fueron

adicionados en los pocillos correspondientes, para posteriormente dejar incubando durante 24 h.

2.4.3. Prueba de viabilidad celular.

Para la prueba de viabilidad celular se utilizó el ensayo MTT, la cual es una técnica colorimétrica usada para la cuantificación de células viables, siguiendo los lineamientos de la norma ISO 10993-5 (International Organization for Standardization, 2009). Para realizar este ensayo se adicionaron 50 µl de MTT a una concentración de 5 mg/ml a cada pocillo. Posteriormente se cubrió la placa y se dejó incubar durante 4 h. Al finalizar este tiempo, se analizaron las muestras en un lector de microplacas *Thermo Scientific FC Multiskan®*, utilizando una longitud de onda de 490 nm.

2.4.4. Prueba de irritación.

Para evaluar la irritabilidad tisular inducida por los apósitos PLA/Ext, se realizó un análisis histológico de las muestras obtenidas, con base en la norma OECD TG 404. El tejido de piel sana extraída de un parpado de un paciente que se sometió a cirugía estética, donado por el Médico Cirujano, con especialidad en cirugía plástica, Marco A. Kalixto Sánchez. El tejido se cortó en segmentos aproximadamente del mismo tamaño que cupieran en los pocillos de una placa con 96 pocillos. En dicha placa previamente se colocaron círculos de 6mm de diámetro de los apósitos con los extractos seleccionados. El tejido se colocó sobre

de los apósitos, para posteriormente agregar 200ml de medio de cultivo previamente. La placa se incubó durante 24 h a una temperatura de 37°C y una atmósfera al 5% de CO₂. Pasado el tiempo, el tejido se fijó con 500 µl de formaldehído al 4% y se dejó reposar durante 20 min, para posteriormente extraer el formaldehído y adicionar 1ml de solución salina. El procedimiento de deshidratación y la encapsulación del tejido en parafina, así como el corte de las muestras en el microtomo y su tinción con hematoxilina y eosina se llevó a cabo en el laboratorio de patología del Hospital Ángeles de San Luis Potosí. Las muestras se analizaron por medio de un microscopio óptico *Nikon Eclipse CiPOL*.

2.4.5. Prueba de proliferación celular.

La proliferación celular se evaluó mediante el método BrdU, utilizando el *kit ab126556 BrdU Cell Proliferation ELISA KIT (Colorimetric)*, siguiendo el protocolo establecido por el fabricante (Abcam, 2025). Lo primero que se realizó fue la preparación del reactivo diluyendo el BrdU en medio de cultivo, DMEM, en una proporción de 2µl de BrdU por cada 1ml de medio de cultivo, según las indicaciones del protocolo. Posteriormente, se adicionaron 20 µl del BrdU diluido en cada pocillo de la placa, el cual contenía al cultivo celular y apósitos previamente preparados, y se dejó incubar durante 24h. Pasado ese tiempo, utilizando una micropipeta se retiró por completo la solución de cada pocillo sin quitar los apósitos, y se agregaron 200 µl de solución fijadora y se dejó incubando durante 30 min a temperatura ambiente. Después se retiró la solución y se lavó 3

veces el pocillo con buffer previamente preparado como lo indica el protocolo. Una vez lavado, se absorbió la solución y se añadieron 100 μ l del anticuerpo detector monoclonal *anti-BrdU*, dejándolo incubar por 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente, se eliminó el anticuerpo lavando los pocillos 3 veces, para después añadir 100 μ l del conjugado de *IgG anti-ratón de cabra con peroxidasa* (previamente preparada según el protocolo) a cada pocillo y se incubó por 30 min a temperatura ambiente. Se realizaron tres lavados con buffer y después un último lavado con agua destilada y se añadieron 100 μ l del *sustrato peroxidasa TMB*, para cubrir la placa con aluminio e incubar durante 30min. Po último, se añadieron 100 μ l de solución de paro para la reacción enzimática y se leyeron los datos a una longitud de onda de 450 nm en el fotómetro de microplacas (FC Multiskan, Thermo Scientific).

2.4.6. Análisis estadístico utilizado.

En todos los ensayos de viabilidad y proliferación celular se realizó el análisis estadístico ANOVA de una vía, utilizando la prueba Dunnett ($p < 0.05$), comparado todos los tratamientos con el control, mediante el software GraphPad prism 8.0.2.

2.4.7. Ensayo de cicatrización en vivo.

Para las pruebas *in vivo* se utilizó un ratón *Balb/C* hembra de siete semanas, el cual fue lesionado con la finalidad de observar el desempeño del apósito *PLA/SRGD/Ext* en el proceso de cicatrización *in vivo*, mediante la medición del

tamaño de la herida durante veintiún días y posteriormente la realización de un análisis histológico del tejido cicatrizado.

Para hacer las heridas se anestesió localmente a la ratona en la espalda (zona donde se realizaron las lesiones) utilizando una dosis de 10 mg/kg de lidocaína. Posteriormente se rasura la zona de la espalda para realizar dos lesiones de 120 mm³ de diámetro realizadas con un perforador para biopsia. Inmediatamente después se colocaron los apósitos comercial y *PLA/SRGD/Ext* en dos de las heridas. Se le dio seguimiento durante 21 días realizando mediciones de las heridas, observando el proceso de cicatrización. Pasado este tiempo se sacrificó a la ratona para extraer los segmentos de tejido donde estaba la herida y realizarles el análisis histológico utilizando la tinción H&E.

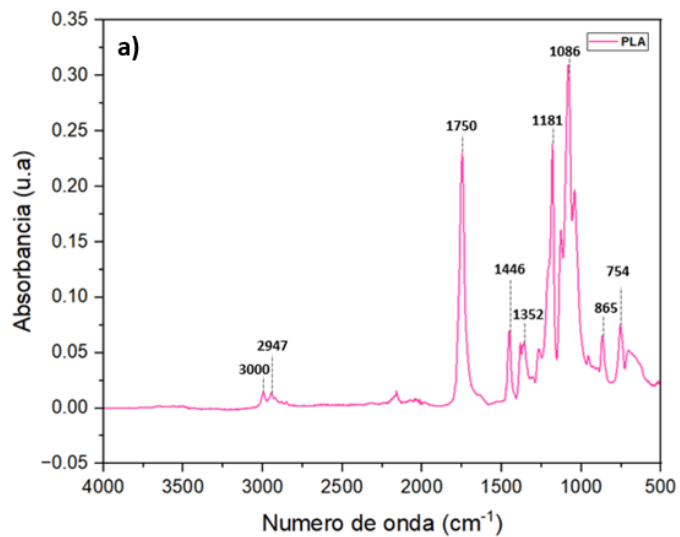
Capítulo 3. Discusión de resultados.

En este capítulo se discutirán los resultados obtenidos mediante las técnicas analíticas utilizadas, para la determinación de los elementos (andamio EH de PLA, extractos de CO/DS y SRGD) utilizados para la construcción del apósito polimérico final, como para la caracterización de éste.

3.1. Discusión de resultados del andamio EH de PLA.

3.1.1. Caracterización por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

La membrana electrohilada, analizada mediante FTIR, generó el espectro que se muestra en la Figura 3.1 a) donde se observan en 1750 cm^{-1} , la banda correspondiente a las vibraciones de tensión del enlace (C=O) y en 2263 cm^{-1} las vibraciones de tensión correspondientes al enlace (C-O), indicando la presencia del éster característico de este polímero cuya estructura se muestra en la Figura 3.1 b) (Fang et al., 2022; Kwiatkowski et al., 2016). La descripción de las vibraciones características de la estructura del PLA se resumen en la Tabla 3.1.



b)

Poli (ácido láctico)

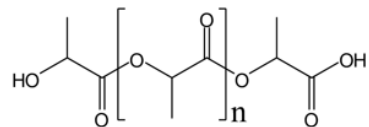


Figura 3.1. a) Espectro correspondiente al electrohilado de PLA, b) Estructura química del PLA

Tabla 3.1. Descripción de bandas resultantes del FTIR de EH de PLA.

N° de onda ()	Vibración	Grupo
3000	C-H, Tensión	-CH ₃
2947		
2852	C-H, Tensión	-CH
1352	-CH, Flexión	
1750	C=O, Tensión	-C=O
1446	-CH, Tensión	-CH ₂
865	C-H, Flexión	
754		
1263	C-O, Tensión	C-O-C
1181		

3.1.2. Caracterización de la morfología del EH de PLA.

Un segmento circular de 6 mm de diámetro del EH resultante se muestra en la Figura 3.2 a). La coloración rosácea es debida al PLA comercial utilizado que tiene esta tonalidad; además, se observa que posee cierta rugosidad debido a que el apósito está conformado por hilos desordenados, formado así una red no-tejida. Esta estructura se muestra con más detalle en la Figura 3.2 b) la cual fue obtenida mediante microscopía óptica con un aumento de 4X. Además de la presencia de las fibras no tejidas, también se observan espacios interfibrilares los cuales permitirían la difusión del oxígeno hacia la zona afectada. Dicha propiedad es relevante debido a que tal como señala Yip (2015), mantener una herida adecuadamente oxigenada es crucial para procesos biológicos claves como la proliferación celular, la defensa bacteriana, la angiogénesis, la síntesis de colágeno, la epitelización y la generación de energía necesaria para la cicatrización.

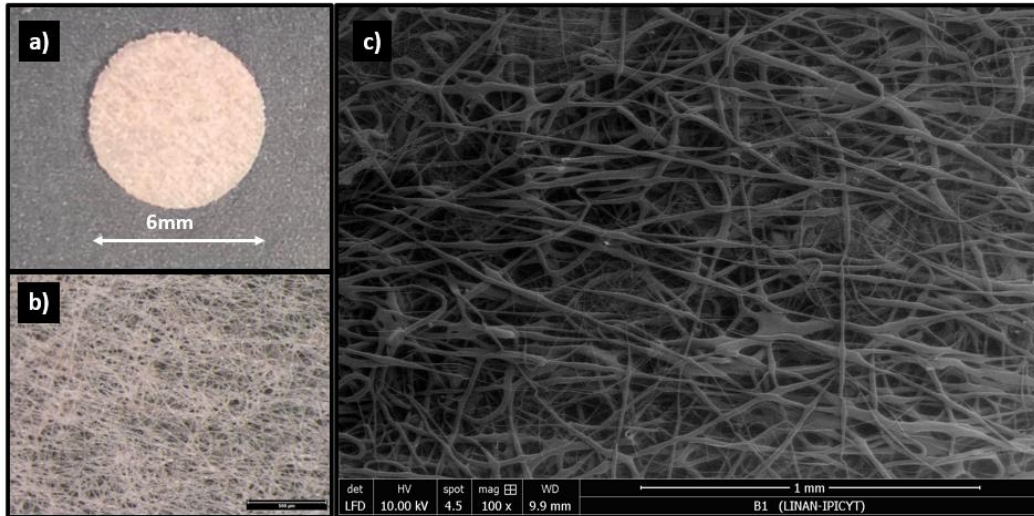


Figura 3.2. a) Fotografía del andamio EH de PLA recortado en un círculo de 6mm de diámetro, b) Imagen de microscopía óptica a 4X del andamio EH y c) Imagen SEM de andamio EH a 100X.

Por otro lado, la Figura 3.2 c) muestra la micrografía obtenida mediante SEM con aumento de 100X donde se observa la forma y distribución de las fibras que conforman el EH. Analizando la morfología se aprecia una estructura no- tejida conformada por fibras de diámetro variado, y algunas de ellas están fusionadas entre sí. El propósito de utilizar la técnica de EH es generar un andamio polimérico que facilite la actividad celular (proliferación, adhesión y migración) en su estructura, debido a la alta relación superficie- volumen que se obtiene al formar tal red de fibras poliméricas (Bernal-Avila et al., 2024). Esta red funge como soporte celular, por lo que al haber una mayor área superficial disponible hay una mayor actividad celular que se refleja en una disminución en el tiempo de regeneración tisular (Ruiz-Salgado et al., 2022).

Con base a lo anterior se espera que la estructura obtenida mediante los parámetros de voltaje (20 kV), flujo (2 ml/h), concentración (12% p/v) y distancia aguja colector (15 cm), conformada por una red de fibras poliméricas con espacios interfibrilares ayude al proceso de cicatrización debido la promoción de proliferación celular y permeabilidad al oxígeno.

3.1.3. Determinación del ángulo de contacto

En la Figura 3.3 se muestra el resultado de la medición del ángulo de contacto que se asocia con el carácter hidrofílico del EH de PLA que se obtuvo. Como se puede observar, se determinó un ángulo de 117.76° siendo éste coincidente con valores reportados en los trabajos de Gutiérrez-Sánchez et al., (2019) y Nora Guadalupe Ramírez González, (2023). Cuando el ángulo de contacto se encuentra entre 90° y 150° se dice que dicho material es hidrofóbico, encontrándose el EH en esta clasificación.

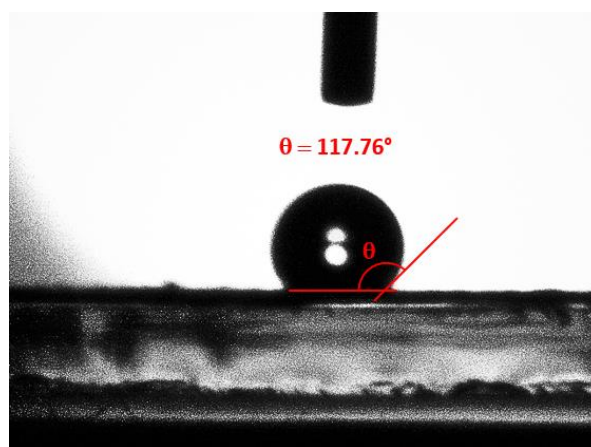


Figura 3.3. Medición del ángulo de contacto del electrohilado de PLA.

Mollazadeh et al., (2021) reportaron que, si bien la presencia de enlaces éster (-COO-) hidrófilos en la estructura principal del polímero permiten la formación de puentes de hidrógeno, la hidrofobicidad se debe a los grupos alquilo en su estructura (-CH₃) que son hidrófobos. Entre las principales características que debe poseer un apósito para el tratamiento de heridas por quemaduras se encuentra el que éste sea hidrofílico, con la finalidad de mantener un ambiente húmedo, además de absorber los exudados generados, reduciendo así el tiempo de cicatrización y la probabilidad de complicaciones causadas por la presencia de bacterias o el aumento del tamaño de la lesión inicial debido a reblandecimiento de la piel alrededor de la zona dañada (Miranda Altamirano, 2020; Noor et al., 2022; Weller, 2009). Si bien el electrohilado de PLA que se obtuvo no cumple con esta característica, en su estructura principal se encuentra el grupo éster (-COO-), el cual permitirá funcionalizar a la membrana mediante interacciones secundarias con otros compuestos, volviéndolo hidrofílico.

3.2. Discusión de resultados de los extractos

3.2.1 FTIR-ATR de los extractos DA, DE, CA y CE

El análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se realizó con el objetivo de identificar grupos funcionales presentes en los concentrados, con la intención de obtener evidencia preliminar sobre la posible presencia de compuestos bioactivos de interés. Es importante señalar que esta caracterización ofrece un panorama general y no proporciona una identificación precisa de los compuestos, ya que se basa únicamente en las vibraciones de los enlaces químicos detectados. Considerando que se estima que CO contiene más de 30 compuestos químicos (Zahraa Kadhum Al-Mussawil & Ibtiha Muiz Al-Hussani, 2019) y DS más de 60 (Rautela et al., 2018), la identificación específica de cada uno no es sencilla.

3.2.1.1. Caracterización por FTIR de CA y CE

Dentro de los compuestos presentes en CO, se destacan aquellos de particular interés por sus propiedades terapéuticas, tales como flavonoides, carotenoides y triterpenos, cuyas estructuras se ilustran en la Figura 3.4 a). Estos compuestos son los principales responsables de las propiedades cicatrizantes buscadas en este estudio. En particular, los flavonoides aportan efectos antiinflamatorios significativos, además de inhibir la liberación de enzimas que inducen síntomas como hinchazón, enrojecimiento, sensibilidad y dolor. Por su parte, los carotenoides también exhiben propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes (Rezai

et al., 2023). Asimismo, los triterpenos presentan una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo efectos antiinflamatorios, antimicrobianos e inmunomoduladores (Nizyński et al., 2015).

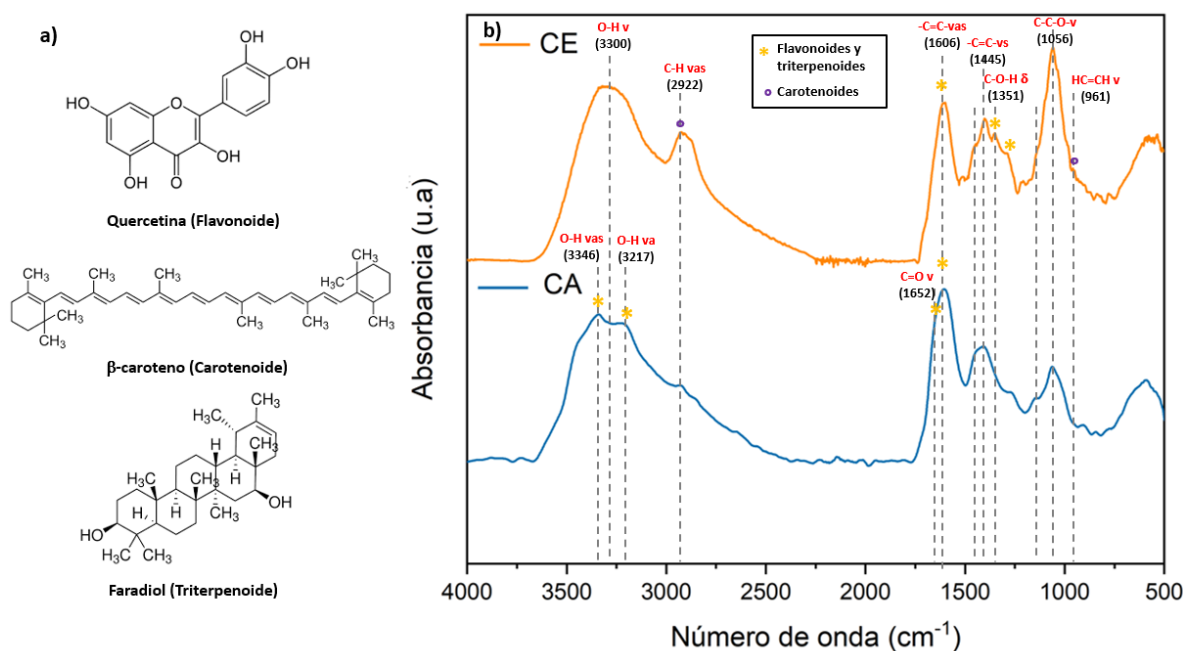


Figura 3.4. a) Ejemplos de compuestos presentes en CO y b) FTIR de CA y CE

En la Figura 3.4 b) se presenta el espectro de FTIR obtenido de los extractos CA y CE, cuyas bandas de interés se describen en la Tabla 3.1. Como se puede observar en los espectros, hay una diferencia significativa en las bandas correspondientes a las vibraciones en el intervalo de 4000 cm⁻¹ a 2500 cm⁻¹, esto se debe principalmente a la presencia del solvente utilizado para la extracción realizada, por lo que muy probablemente la presencia del alcohol etílico en el CE se ve reflejado con las bandas correspondientes a vibraciones de tensión -OH (3300 cm⁻¹), y -CH (2922 cm⁻¹), mientras que en el caso de CA se observan dos

bandas en 3346 cm^{-1} y 3217 cm^{-1} , que corresponden a vibraciones de tensión de los -OH presentes en estructuras aromáticas.

Por otro lado, se observa que la banda correspondiente a vibraciones de tensión asimétrica C=C (1606 cm^{-1}) es más ancha en el caso de CA, esto se puede explicar por el traslape de un pico presente en 1652 cm^{-1} , que junto con las vibraciones en 1606 cm^{-1} y 1445 cm^{-1} más intensas que en el caso de CE, podrían indicar una mayor cantidad de compuestos aromáticos, como son los fenoles. Por otro lado, el espectro de CE presenta una banda ubicada en 1056 cm^{-1} que es más intensa comparada con la que está presente en CA, la cual corresponde a vibraciones de tensión C-O, una posible explicación es la presencia residual del etanol que se utilizó como solvente.

Con respecto a la posible presencia de flavonoides en los concentrados, las bandas ubicadas en 3346 , 3300 , 1652 , 1606 , 1351 , 1268 , 826 , 760 y 588 cm^{-1} (marcadas con un asterico “*”) han sido reportadas en la literatura (Catauro et al., 2015; Kharat et al., 2021; Kwiatkowski et al., 2016). En el caso de los carotenoides se puede observar una mayor presencia de sus bandas características en CE (marcadas con un “o”), ubicándolas en 2922 y 961 cm^{-1} , mientras que en CA la segunda banda casi no es notoria (Sayed et al., 2023), coincidiendo con lo reportado en el trabajo de Kumar Verma & Raina, (2014) donde se menciona una mayor concentración de estos compuestos en el extracto etanólico respecto al acuoso. Si analizamos las bandas correspondientes a los grupos funcionales que constituyen a los triterpenoides reportadas en la literatura, éstas son coincidentes

con las de los flavonoides debido a la comparten varios grupos funcionales en sus estructuras (Bagamla et al., 2021).

Tabla 3.2. Descripción de bandas resultantes del FTIR de CA y CE.

Numero de onda (cm ⁻¹)	Vibración	Estructura
3346	O-H tensión asimétrica	Fenol (Catauro et al., 2015; Nizyński et al., 2015; Pelin et al., 2023)
3300 *	O-H tensión	Alcoholes alifáticos (Mudalip et al., 2013)
3217	O-H tensión simétrica	Fenol (Catauro et al., 2015)
2922^o	C-H tensión asimétrica	Alifático (Pelin et al., 2023)
1652^{*o}	C=O tensión	Aromáticos(Pelin et al., 2023)
1606*	(-C=C-) tensión asimétrica y simétrica	Aromáticos (Pelin et al., 2023)
1445		
1404	(C-O-H) deformaciones angulares	Aromáticos (Catauro et al., 2015)
1351*		
1268 *	(C-O) tensión	Éter en anillo (Catauro et al., 2015)
1141	(C-O) tensión	Esteres (Pelin et al., 2023)
1056	C-C-O tensión	Alcoholes (Catauro et al., 2015)
961	(HC=CH) aleteo fuera de plano	Alifáticos (Sayed et al., 2023)
826*	(C-H) flexión fuera del plano	Hidrocarburos aromáticos(Catauro et al., 2015; Pelin et al., 2023)
760*		
588*		

3.3.1.2. Caracterización por FTIR de DA y DE.

Entre los principales compuestos químicos presentes en *D. stramonium*, que se han reportado, están los alcaloides tropánicos, atropina y escopolamina (Dzolkifle & Wan Nawawi, 2024), siendo éstos los principales responsables de los efectos alucinógenos y tóxicos característicos de esta planta. Sin embargo, también se reporta la presencia de taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, entre otros (Sharma et al., 2021). Para los propósitos de nuestro apósito se necesita que

entre las vastas propiedades que posee esta planta, estén presentes la antiinflamatoria, analgésicas y antioxidantes, siendo los responsables de dichas propiedades, los flavonoides, alcaloides y taninos principalmente (Rautela et al., 2018). En este sentido, los flavonoides y taninos han sido ampliamente reconocidos por su capacidad para ejercer efectos antiinflamatorios y antioxidantes (Hjouji et al., 2025; Rezai et al., 2023). Por otro lado, diversos estudios han demostrado que los alcaloides también contribuyen con propiedades antiinflamatorias y analgésicas (Letchuman et al., 2024).

En la Figura 3.5 a) muestra el espectro FTIR de los concentrados DA y DE, cuyas bandas principales se describen en la Tabla 3.2. Si bien ambos espectros son similares, se observan diferencias en la forma de las bandas ubicadas en 1625, 1457, 1383 y 1068 cm^{-1} , correspondientes a vibraciones de tensión C-O-H, C-O-C, C-O respectivamente presentan mayor intensidad en DE. Ante esto, Hjouji et al., (2025) reporta que el extracto etanólico de DS posee una mayor concentración de mucílago que los concentrados acuosos. Por otro lado Desai et al., (2024) muestra una mayor concentración de flavonoides presentes en el extracto etanólico, comparado con el acuoso. Si observamos las estructuras de ambos compuestos (Figura 3.5 b) prácticamente están conformados por los mismos grupos funcionales, complicando la identificación exacta de cuál es el compuesto que provoca dicha diferencia. Sin embargo, recordemos que los compuestos químicos que se encuentran en mayor concentración son los alcaloides tropánicos, por lo que los picos con mayor presencia como los ubicados en 3418, 1625, 1457, 1383 y 1068 cm^{-1} pueden referirse principalmente a estos alcaloides.

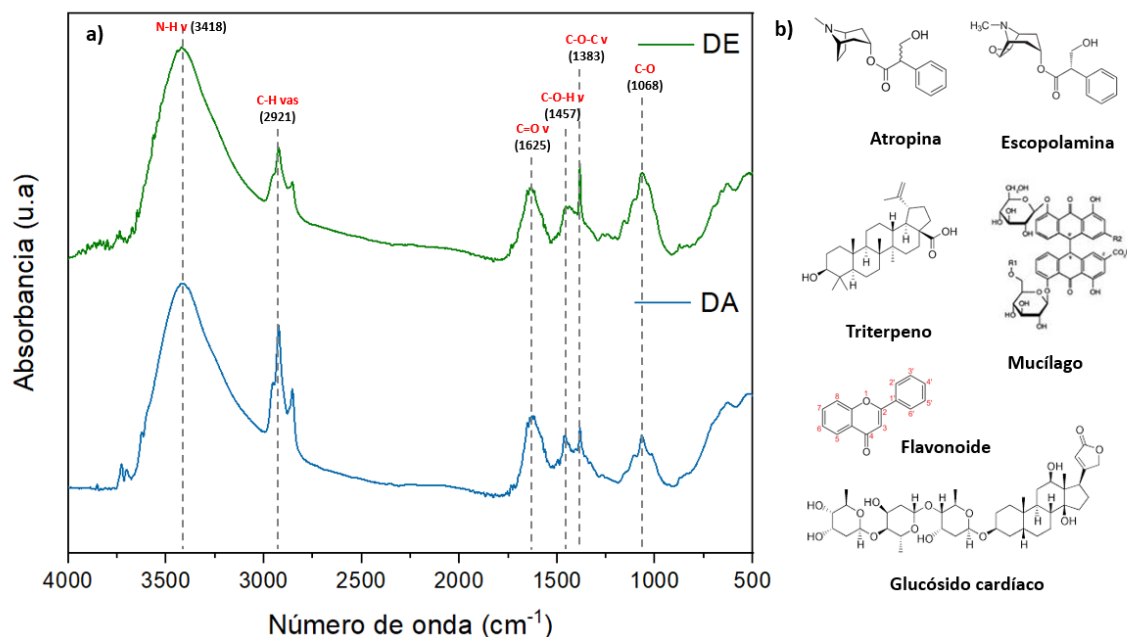


Figura 3.5. a) FTIR de DA y DE, b) Ejemplos de compuestos presentes en DS.

Tabla 3.3. Descripción de bandas resultantes del FTIR de DA y DE.

Número de onda (cm ⁻¹)	Vibración	Estructura
3418	(O-H) tensión (N-H) tensión	Fenoles Aminas o Amidas (Sangeetha & Stella, 2023)
2921	(C-H) tensión	Alcano (Rubaye et al., 2018)
2851	(C-H) tensión	Alcano (Rubaye et al., 2018) o
1625	(C=O) tensión	Carbonilo (Oladipo et al., 2020)
1457	(C-O-H) tensión	Fenoles (Desai et al., 2024)
1383	(-C-O-C) tensión (N-O) tensión	Alquilo (Desai et al., 2024) NO ₂ (Sangeetha & Stella, 2023)
1267	(C-N)	Amina (Rubaye et al., 2018)
1160	(C-O) tensión C-N	Alcoholes terciarios Aminas (Singh et al., 2022)
1109	(C-O-H) tensión	Fenoles (Williams D. G., 2015)
1068	(C-O) tensión	Alcoholes o ésteres

		(Sangeetha & Stella, 2023)
1021	(C-F) tensión (-C-O) tensión	Haloalcano(Rubaye et al., 2018) Alcoholes (Gomathi et al., 2017)
933	=C-H	
872	(=C-H) flexión	Alqueno (Rubaye et al., 2018)
630		

3.2.2. Viabilidad celular de los extractos.

La supervivencia de los fibroblastos de la línea celular 3T3 se analizó mediante el ensayo MTT, en donde se midió la actividad mitocondrial de las células mediante la absorbancia a una longitud de onda de 490 nm, comprendiendo que una mayor absorbancia significa una mayor viabilidad celular. Este análisis se realizó con la finalidad de determinar la viabilidad del uso de estos extractos para su incorporación en el apósito para el potencial tratamiento de quemaduras que se está estudiando.

En la Figura 3.6 se muestran los resultados que se obtuvieron de la exposición de los fibroblastos a los concentrados preparados: DA20 µg/ml, DA30 µg/ml, DA50 µg/ml, DE20 µg/ml, DE30 µg/ml, DE50 µg/ml, CA20 µg/ml, CA30 µg/ml, CA50 µg/ml, CE20 µg/ml, CE30 µg/ml y CE50 µg/ml. En primer lugar, es importante destacar que con base en la norma ISO 10993-5:2009, si alguno presenta un porcentaje de viabilidad celular con respecto al blanco menor al 70%, entonces se considera citotóxico.

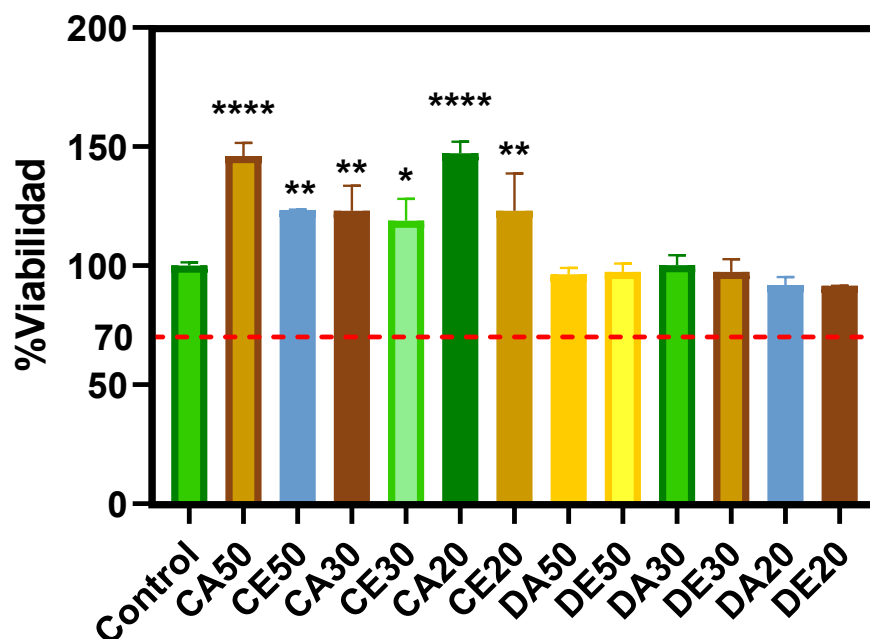


Figura 3.6. Porcentaje de viabilidad celular resultante del ensayo MTT de los extractos: *D. stramonium* acuoso (DA) y etanólico (DE), *C. officinalis* acuoso (CA) y etanólico (CE), en concentraciones de 20 µg/ml, 30 µg/ml y 50 µg/ml. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)

Analizando los resultados de porcentaje de viabilidad celular de los extractos, ninguno es citotóxico. No obstante, de acuerdo con el análisis estadístico realizado mediante la prueba Dunnett ($p < 0.05$) se observa que hay una diferencia estadísticamente significativa en los extractos de CO (*C. Officinalis*) comparados con el control, siendo los extractos con mayores porcentajes de viabilidad celular las muestras CA50 y CA20 con valores de 146% y 147%, respectivamente. Por otro lado, los extractos de DS (*D. Stramonium*) no presentan ninguna diferencia estadística comparada con el control. Esto puede atribuirse a la composición química distinta de ambos extractos. Mientras que en DS predominan los alcaloides tropánicos, conocidos por sus efectos tóxicos al ser ingeridos, en CO

los compuestos mayoritarios son los flavonoides, los cuales se asocian comúnmente con propiedades antioxidantes y promotoras de la viabilidad celular (Gaire & Subedi, 2013; Kumar Verma & Raina, 2014; Nowak-Terpiłowska et al., 2023; Sharma et al., 2021). Sin embargo, y a pesar de las características tóxicas del DS, si bien no hubo un aumento de porcentaje de viabilidad celular, indicando una posible proliferación celular, tampoco se muestra una disminución en ésta, por lo que se puede confirmar que, en las concentraciones utilizadas, no muestra un efecto citotóxico para las células 3T3.

En el caso del comportamiento de los de los extractos de *C. officinalis* (CO), la viabilidad celular más baja se observó a una concentración de 30 µg/ml, en comparación con las concentraciones de 20 y 50 µg/ml. Este resultado difiere de lo esperado, ya que no se observó una relación proporcional entre la concentración del extracto y la viabilidad celular. Esto se puede deber al efecto llamado bifásico o no lineal, donde a concentraciones bajas existe una estimulación en la viabilidad celular, en concentraciones intermedias se pueden presentar efectos citotóxicos, pero a concentraciones altas se activan algunos otros mecanismos que reducen los efectos tóxicos (Joaquín & Morales, 2016).

Con base en lo anteriormente discutido, se decidió trabajar con los concentrados tanto etanólico como acuoso de CO a 20 µg /ml y 50 µg/ml, y de DS a 20 µg/ml, esto con la finalidad de evaluar el desempeño de los extractos considerando el solvente, la concentración y el tipo de planta medicinal utilizada.

3.2.3. Caracterización por ángulo de contacto de los apósitos PLA/Conc.

La característica hidrofílica de los apósitos para quemaduras es fundamental porque permite que el apósito absorba el exudado de la herida y mantenga un ambiente húmedo que facilite el proceso de cicatrización. En el capítulo anterior se evaluó el carácter hidrofílico del electrohilado de PLA obtenido, resultando un material hidrofóbico con un ángulo de contacto de 117.76° . Para determinar esta propiedad, y observar si se presenta algún cambio al impregnarse el electrohilado con los extractos, se realizó la medición de ángulo de contacto, y los resultados se muestran en la Figura 3.7.

Como se observa en la Figura 3.7 A), la impregnación del EH con los extractos aumentó la hidrofiliidad reflejado por la disminución del ángulo de contacto. Los extractos que tuvieron mayor incremento de hidrofiliidad fueron el PLA/CA50 y PLA/DA20 con 54.67° y 76.28° , respectivamente; pasando de ser hidrofóbicos a hidrofílicos. Este comportamiento se debió a la presencia de los compuestos químicos presentes en CO y DS en la estructura del EH, como se ilustra en la Figura 3.7 B).

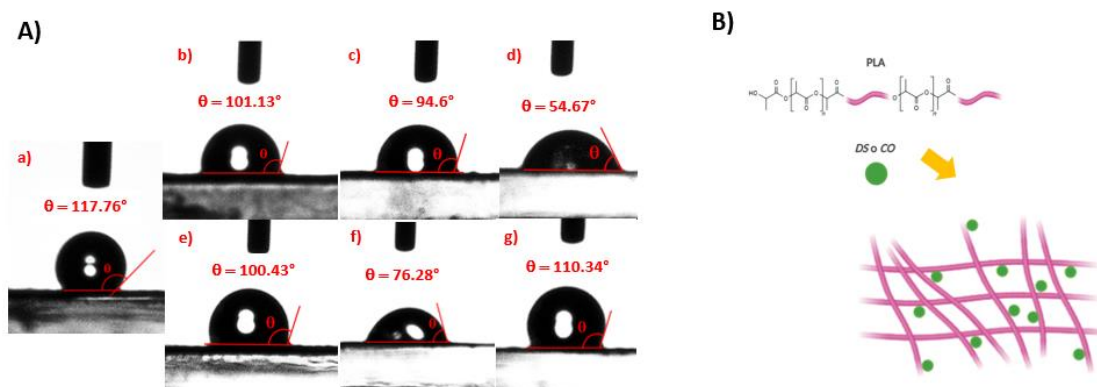


Figura 3.7.A) Medición del ángulo de contacto de los andamios: **a)**PLA, **b)**PLA/CA20, **c)**PLA/CE20, **d)**PLA/CA50, **e)**PLA/CE50, **f)**PLA/DA20 y **g)**PLA/DE20. B) Ejemplificación de presencia de CO/DS en EH.

En el caso de DS, sus compuestos mayoritarios son los alcaloides tropánicos, los cuales presentan un carácter predominantemente hidrofóbico debido a la presencia de anillos aromáticos y cadenas hidrocarbonadas (Sharma et al., 2021). Como consecuencia, estos compuestos se solubilizan mejor en etanol que en agua. Con base en lo anterior, era de esperarse que el extracto DA20 presentara menor ángulo de contacto. Además, al usar agua como solvente, se favoreció la extracción de compuestos hidrofílicos, lo que pudo inducir esta misma característica (hidrofilicidad) en el apósito tratado con dicho extracto.

Por otro lado, el compuesto mayoritario de CO son los flavonoides, que contienen grupos hidroxilo en su estructura, y les confieren un carácter hidrofílico a estos compuestos. Si bien tanto CE como CA poseen flavonoides en su composición química, siendo mayor la concentración de éstos en CE como reporta Kumar Verma & Raina, (2014), también contiene mayor cantidad de carotenoides, los

cuales son hidrofóbicos debido a que su estructura está principalmente conformada por largas cadenas de hidrocarburos con múltiples dobles enlaces conjugados y pocos grupos funcionales polares. Es por esto que CA50 es el apósito que muestra mayor hidrofiliidad que se refleja en su menor ángulo de contacto.

3.2.4. Viabilidad celular de los apósitos PLA/Ext.

Los apósitos PLA/Ext se evaluaron en términos de la prueba de viabilidad celular de las células 3T3. Utilizando como control el EH del PLA sin impregnar, sabiendo que el PLA es un material biocompatible y no citotóxico (Bahramsoltani et al., 2014; Bîrcă et al., 2023; Gunjan et al., 2012; Miranda Altamirano, 2020), se analizó si la presencia de los extractos indujo algún incremento en la viabilidad celular.

Como se observa en la Figura 3.8, los extractos etanólicos presentan valores más bajos de viabilidad celular. En el caso de DS, esto podría deberse a la presencia de alcaloides tropánicos u otros compuestos con potencial citotóxico, los cuales se encuentran en mayor concentración en los extractos etanólicos que en los acuosos. De manera similar, en el caso de CO, es posible que exista una mayor concentración de compuestos bioactivos en el extracto acuoso que favorecen la viabilidad celular en comparación con el extracto etanólico. Sin embargo, aún no se ha identificado con precisión qué compuestos podrían estar generando este efecto. Según el estudio de Kumar Verma & Raina, (2014), el extracto etanólico contiene una mayor cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos. Aunque los flavonoides son ampliamente reconocidos por sus propiedades

bioactivas, los compuestos fenólicos y los taninos, en determinadas concentraciones, pueden resultar citotóxicos. En particular, los compuestos fenólicos pueden inducir la generación de radicales libres, los cuales pueden dañar las membranas celulares y el ADN, además de inhibir la respiración mitocondrial (Podgórska-Kryszczuk & Pankiewicz, 2023).

Así mismo, ninguna de las absorbancias de los extractos se encuentra por debajo de la línea roja, la cual representa el límite (70% de viabilidad celular) establecido por la norma ISO 10993-5 para distinguir entre materiales citotóxicos y no citotóxicos. Por lo tanto, se concluye que ninguno de los apósitos evaluados presenta citotoxicidad. Además, con base en los resultados de la prueba de Dunnett ($p < 0.05$), únicamente los tratamientos CA20 y CA50 mostraron diferencias estadísticamente significativas, destacándose como los más viables en términos de compatibilidad celular.

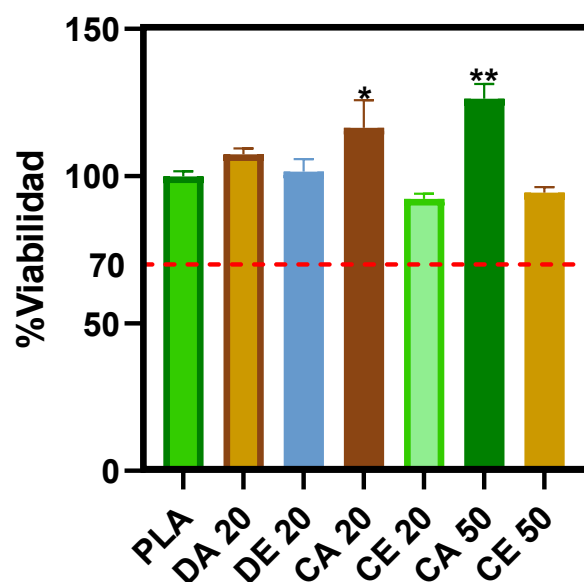


Figura 3.8. Porcentaje de viabilidad celular resultante del ensayo MTT ($p < 0.05$) de los apósitos: PLA, PLA/DA 20 $\mu\text{g/ml}$, PLA/DE 20 $\mu\text{g/ml}$, PLA/CA 20 $\mu\text{g/ml}$, PLA/CE 20 $\mu\text{g/ml}$, PLA/CA 50 $\mu\text{g/ml}$ y PLA/CE 50 $\mu\text{g/ml}$.

3.2.5. Prueba de irritación de los apósitos PLA/Ext.

La prueba de irritación se llevó a cabo para determinar la presencia y grado de irritación inducida por un material o sustancia mediante el análisis histológico de tejido, siguiendo los criterios establecidos por la OECD TG 404 para ensayos de biocompatibilidad dérmica. En la Figura 3.9 se observa el tejido de piel sano sin ningún tratamiento y observado con un aumento de 20X. En la imagen se pueden observar elementos que conforman a este tejido como son el estrato córneo, granuloso, espinoso y basal que conforman a la epidermis, utilizando la imagen del recuadro como referencia. De igual forma en la dermis se distinguen algunos vasos sanguíneos, folículos pilosos, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas.

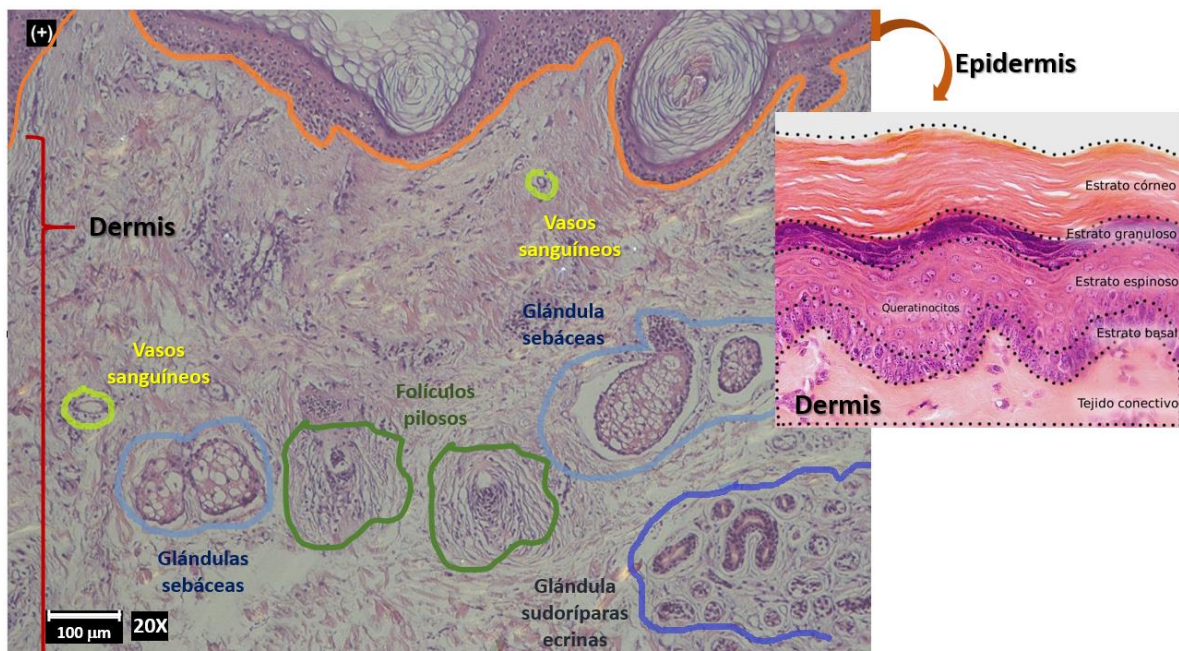


Figura 3.9. Corte histológico a 20x de un paciente sano donde se identificaron los principales elementos que conforman el tejido cutáneo, a través de una tinción convencional de hematoxilina y eosina. Las capas de la epidermis se ejemplifican en con la imagen del recuadro.

En la Figura 3.9 se observan las muestras obtenidas de los tejidos expuestos a los apósitos PLA/Conc, utilizando un aumento de 4X. En la imagen correspondiente al control (+), en la del PLA y en la de PLA/CA50 se observan unas fibras gruesas de color rosado intenso, lo que corresponde muy probablemente a músculo esquelético, el cual es responsable del movimiento voluntario del cuerpo, y recordando que este segmento de piel corresponde al parpado, se puede explicar la presencia de éste. Aunque no se aprecia ningún cambio significativo en los tejidos, como alguna pérdida de la estructura de las capas del tejido, en las muestras tratadas con PLA/CA50, PLA/CA20 y PLA/TE20 se identifican zonas donde las fibras de colágeno adquieren una tonalidad naranja indicando una

posible irritación generada por la exposición al concentrado, ya que la muestra sometida al EH sólo no muestra este fenómeno (Obaíd et al., 2018).

Para la evaluación de la presencia de irritabilidad según la OECD TG 404 es necesario evaluar la presencia de eritemas, edemas y la formación de escaras y asignar una puntuación, donde el valor máximo de ésta es 4 indicando la presencia del elemento a evaluar de carácter severo. Para determinar la presencia de algunos de estos fenómenos en una muestra *ex vivo* sometida al tratamiento es necesario observar si hay espacios intercelulares amplios, separación de fibras o una menor densidad celular, reflejada en la presencia de espacios claros entre células o fibras de colágeno y pérdida en la arquitectura de las capas, para el caso del edema (Ton et al., 2023) La presencia de eritemas se refleja en la apariencia de los vasos sanguíneos, donde éstos se ven dilatados (Ton et al., 2023). En el caso de la presencia de escara se busca una pérdida de arquitectura del tejido, áreas teñidas de rosa intenso, sin núcleos presentes y células mal definidas (Ballestín et al., 2018).

Analizando las imágenes obtenidas correspondientes a las muestras tratadas con los apósitos PLA/DA20 y PLA/DE20 (Figura 3.10 g y h, respectivamente), exhiben espacios sin coloración, esto se puede deber al proceso de preparación de la muestra donde la tinción no se realizó correctamente o a la presencia de edemas. Enfocando Figura 3.10 g, donde se muestra la muestra PLA/DA20 observada con un aumento de 4X se observa que no hay pérdida de la estructura de las capas y que las células presentes que se muestran como un círculo blanco con un punto morado en el medio, en el caso de los queratinocitos, están bien definidos, sin

embargo comparando dicha imagen con la del control positivo existe zonas sin tinción lo que puede indicar la presencia de edema; es decir, acumulación anormal de líquido en el espacio intercelular o en cavidades del cuerpo. No obstante, la densidad de las fibras de colágeno en las zonas teñidas es muy similar al del control, y no se ven espacios grandes entre éstas por lo que, si hay presencia de edema, ésta es leve (Ballestín et al., 2018). En el caso de la muestra tratada con PLA/DE20 (Figura 3.10 h), al igual que la muestra anterior, exhibe espacios blancos, indicando una posible formación de edema, además dicha muestra tiene una coloración más anaranjada lo que indica una posible irritación, aunque al no haber pérdida de la estructura, tanto del tejido como de las células, se podría considerar un nivel leve en la formación de escaras (Ballestín et al., 2018; Ton et al., 2023). Con base a estos resultados la ponderación realizada con base a lo establecido en la OECD TG 404 se muestra en la Tabla 3.3, y únicamente los apósitos PLA/DA20 y PLA/DE20 se podrían clasificar como “*Sustancias con ligera a moderada irritación dérmica ex vivo*”, mientras que los otras muestras al no generar irritación se consideran como “*Sustancias no irritantes*” (Organisation for Economic Cooperation and Development, 2002).

Tabla 3.4. Escala de puntuación clínica según OECD TG 404.

Reacción cutánea	(+)	PL A	PLA/CA50	PLA/CE5 0	PLA/CA20	PLA/CE2 0	PLA/DA20	PLA/DE2 0
Eritema y formación de escara	0	0	0	0	0	0	0	1

Edema	0	0	0	0	0	0	1	1
-------	---	---	---	---	---	---	---	---

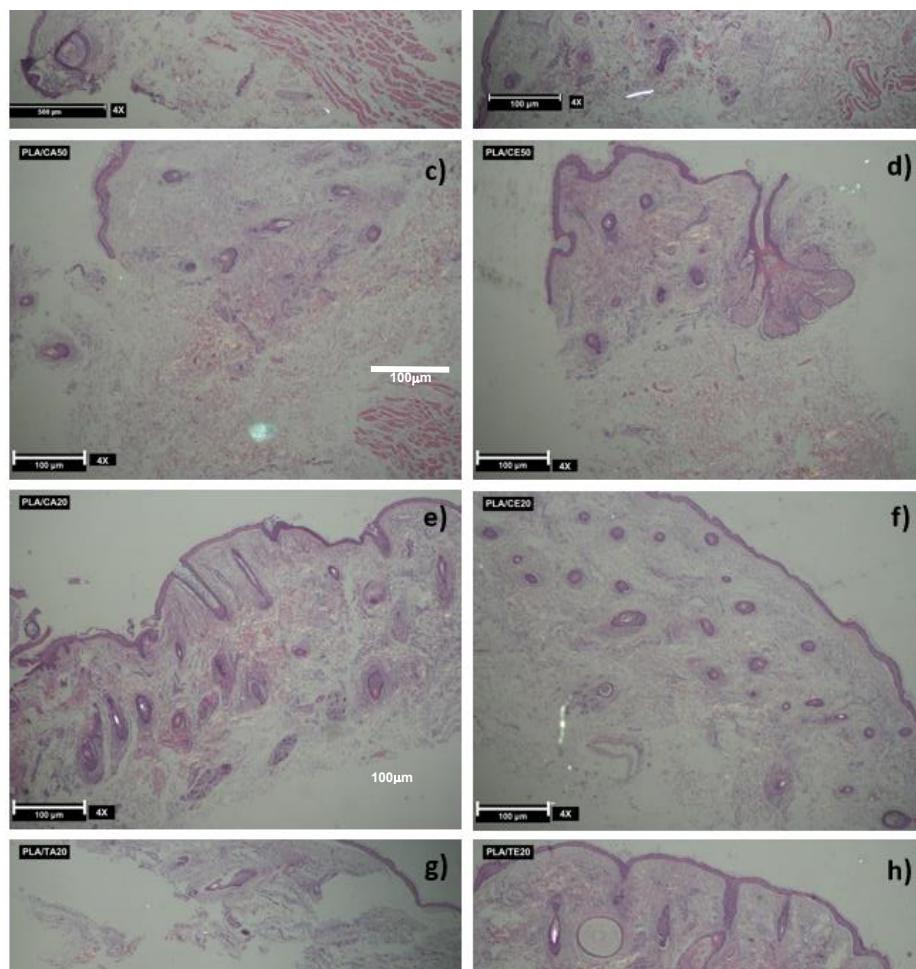


Figura 3.10. Análisis histológico del tejido expuesto a los apósitos PLA/Conc. a) Control (+), b) PLA, c) PLA/CA 50 µg/ml, d) PLA/CE 50 µg/ml, e) PLA/CA 20 µg/ml, f) PLA/CE 20 µg/ml, g) PLA/DA 20 µg/ml y h) PLA/DE 20 µg/ml.

3.3. Discusión de resultados de los SRGDs sintetizados.

3.3.1. Caracterización por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

La reacción de amidación térmica que se llevó a cabo entre la urea y el ácido cítrico, donde ambas estructuras reaccionaron para generar un enlace imida (-OCNHCO-) se muestra en la Figura 3.11. La estructura que se espera obtener es una molécula análoga al RGD (SRGD), la cual promoverá la adhesión celular en las fibras del EH. Con base en la metodología propuesta por Ramírez González, (2023), se variaron los parámetros temperatura de reacción (50°C y 90°C) y relación molar urea: ácido cítrico (2:1 y 3:1).

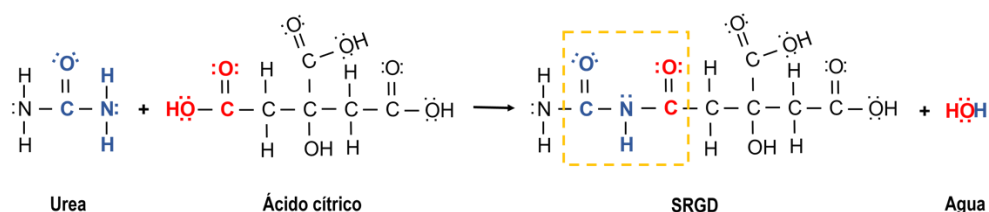


Figura 3.11. Reacción para síntesis de SRGD propuesta.

Los productos resultantes se analizaron mediante FTIR obteniéndose el espectro que se muestra en la Figura 3.12, cuyas bandas se resumen en la Tabla 3.1. Al analizar el espectro, se observa una disminución en la intensidad de las bandas ubicadas en 3458 y 3356 cm^{-1} , las cuales corresponden a las vibraciones de los grupos amino ($-\text{NH}_2$) de la urea, siendo este efecto más notorio cuando la

reacción se llevó a cabo a 90 °C. Esta disminución sugiere el consumo parcial de dicho reactivo, al pasar de ser una amida primaria (-NH₂) a amida (-CONH), donde al nitrógeno estar enlazado con un hidrógeno se espera la formación de una banda alrededor de los 3170-3370 cm⁻¹ (Smith Brian C., 2020). Por otro lado, al comparar los espectros de los reactivos y los productos, se observa un corrimiento en las bandas correspondientes a determinados grupos funcionales. Este desplazamiento puede atribuirse a que, en los productos, dichos grupos se encuentran integrados en una estructura química más compleja, lo que modifica el entorno electrónico del enlace y, en consecuencia, su energía vibracional (Wiley et al., 2005). Lo anterior es indicativo de la formación de la amida, cuyas bandas de absorción típicas se encuentran en 1625, 1581 y 1444 cm⁻¹, las cuales se encuentran solapadas con las señales propias del ácido cítrico y de la urea.

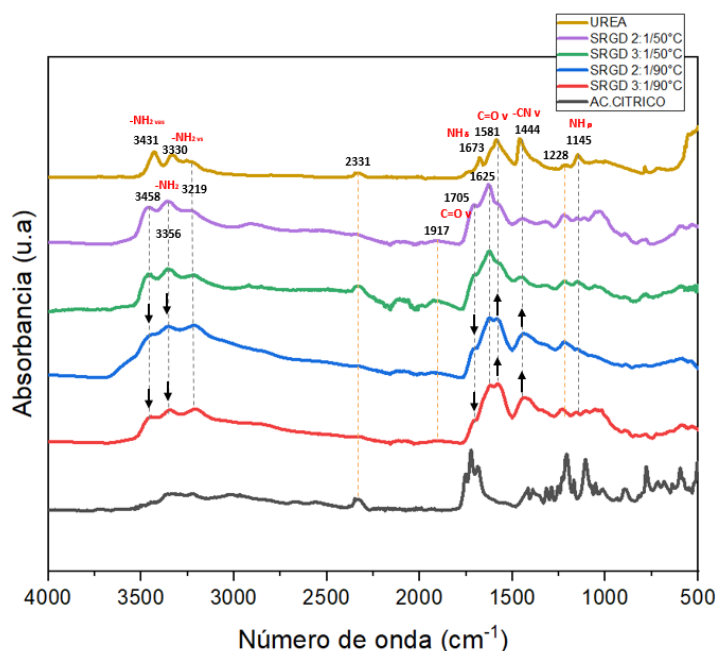


Figura 3.12. Espectros de FTIR de los SRGDs: 2:1/50°C, 3:1/50°C, 2:1/90°C y 3:1/90°C, así como de las materias primas.

Tabla 3.5. Descripción de bandas resultantes del FTIR SRGDs.

Número de onda	Vibración	Estructura
3458	-NH ₂ tensión asimétrico	Amina (-CONH-) (Grdadolnik & Maréchal, 2002; Timón et al., 2021)
3356	-NH ₂ tensión simétrico	
2331	CO ₂ tensión	(Li et al., 2022)
1917	C=O estiramiento asimétrico	(Anhídridos, 2001)
1705	C=O tensión	Carboxilo (-COOH) (Grdadolnik & Maréchal, 2002)
1625	NH deformación	Amida (-CONH-) (Grdadolnik & Maréchal, 2002; Timón et al., 2021)
1581	C=O tensión	
1444	C-N tensión	
1145	-NH flexión	
1228	C-N, C-O-C	(Anhídridos, 2001; Grdadolnik & Maréchal, 2002; Timón et al., 2021)

En la Figura 3.13 se muestra el mecanismo detallado de reacción propuesto, donde se sugiere que la formación del aminoácido se lleva a cabo al unirse el grupo amina de la urea con el grupo carboxilo del ácido cítrico mediante un ataque nucleofílico, y posteriormente se pierde una molécula de agua formada a partir del grupo hidroxilo del ácido carboxílico y el protón de la amina. Analizando los espectros, en aquellos SRGDs que se llevaron a cabo a una temperatura de reacción de 90°C hay una disminución en la intensidad de la banda correspondiente a la vibración del grupo carboxilo (C=O) en 1705 cm⁻¹, al mismo tiempo que se incrementó la intensidad de la banda a 1581 cm⁻¹, atribuida a la

vibración C=O de grupos amida, el cual puede indicar la pérdida de la estructura del ácido carboxílico debido a la pérdida del grupo hidroxilo, y la formación de una nueva amida resultante de la unión de la amina de la urea con el carbonilo de lo que antes era el ácido carboxílico. Esto se reitera con el aumento en la intensidad de la banda asociada a la tensión del enlace C–N ubicada en 1444 cm^{-1} , lo cual indicaría una mayor formación de estructuras tipo imida a temperaturas elevadas en comparación con los productos obtenidos a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

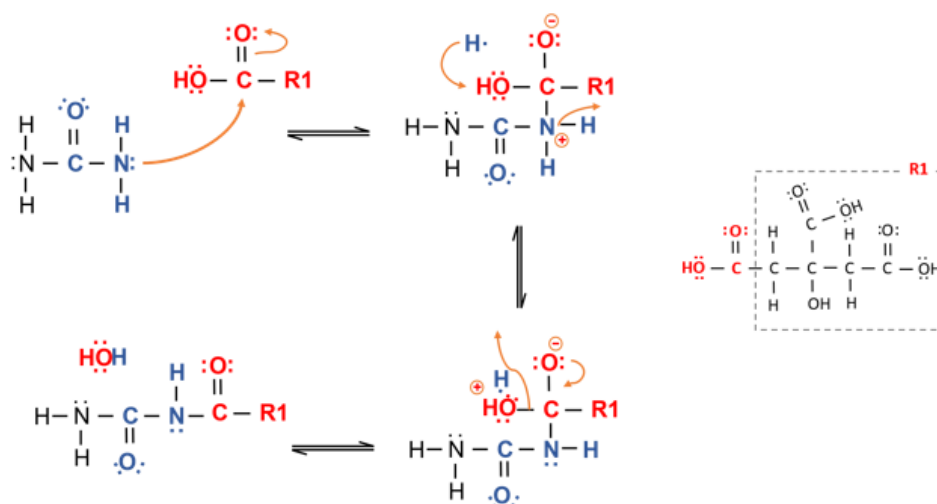


Figura 3.13. Mecanismo de reacción para síntesis de SRGD.

Cabe destacar la posibilidad de la formación de diferentes moléculas de SRGD cuya diferencia radica en la cantidad de ramificaciones formadas mediante la reacción de la urea con alguno de los grupos carboxilo que conforman al ácido cítrico, dichas variaciones se muestran en la Figura 3.14. Se sugiere que la cantidad de ramificaciones de aminoácidos generadas dependerá de la relación

molar de urea: ácido cítrico que se utilice; si es 1:1, idealmente se esperaría la formación de una sola imida, si es 2:1, sería la formación de dos grupos imidas y por ende si es 3:1 se esperan tres formaciones de dicho grupo. Si bien se busca una mayor ramificación con la finalidad de tener una mayor hidrofiliidad y mayores puntos de anclaje celular, los espectros resultantes no muestran una diferencia significativa con respecto a la relación molar utilizada.

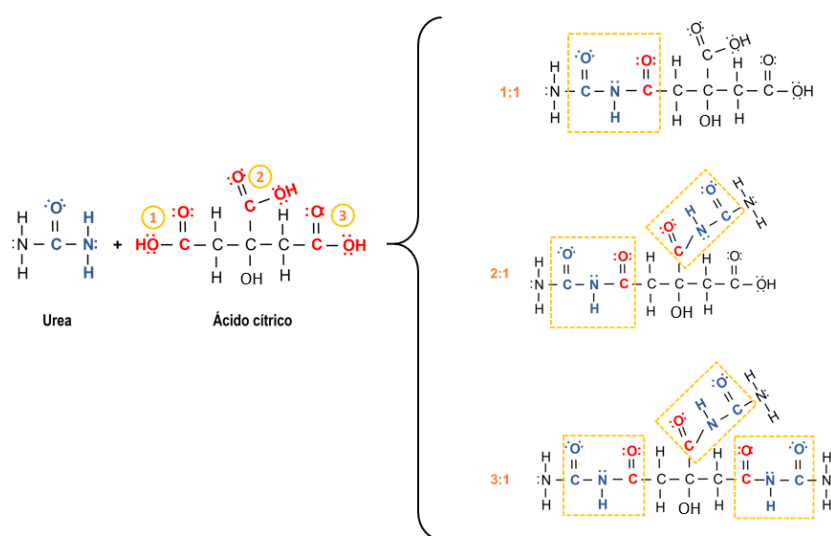


Figura 3.14. Efecto de la relación molar urea: ácido cítrico.

Por otro lado, a pesar de que el objetivo es obtener el aminoácido SRGD como producto, hay posibilidad de que se lleven a cabo otras reacciones en paralelo a la reacción principal (Figura 3.15). Al estar la urea en un medio acuoso con un pH menor a 5, ésta se puede hidrolizar obteniendo como productos, amoníaco, dióxido de carbono y agua (De Jesús Rodríguez-Jiménez et al., 2016). Además, también existe la posibilidad de la deprotonación del ácido cítrico ocasionando la

formación de un anhídrido cíclico (*Anhidridos*, 2001). En ambos casos hay presencia de ciertas bandas correspondientes a las estructuras de los productos antes mencionados, 2331 cm^{-1} para CO_2 y en el caso del anhídrido cíclico 1228 , 1917 cm^{-1} ; sin embargo, las bandas correspondientes no son lo suficientemente significativas para afirmar que éstas se deban a las reacciones paralelas que se plantean.

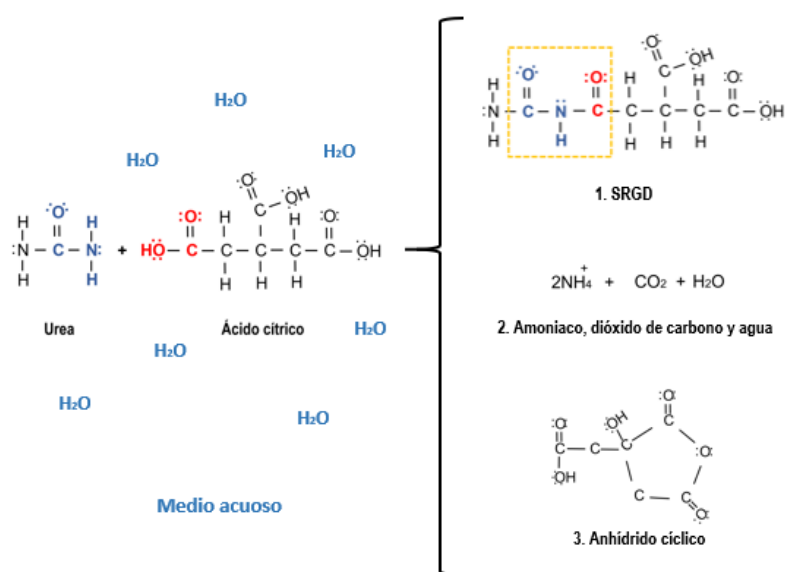


Figura 3.15. Posibles productos en el proceso de síntesis

Debido a lo previamente discutido, es necesario realizar el uso de otras técnicas de caracterización, como resonancia magnética nuclear (RMN) o alguna cromatografía de líquidos para confirmar si efectivamente se ha producido la reacción esperada, ya que, según reportes previos en la literatura, la formación de imidas mediante una amidación térmica requiere temperaturas superiores a $100\text{ }^\circ\text{C}$

(María Alejandra Hernández Santana, 2014). También es posible que se estén generando productos intermedios o estructuras diferentes a las anticipadas.

3.3.2. Caracterización por ángulo de contacto de los apósitos PLA/SRGD

El efecto de la impregnación del EH con los SRGDs sobre el carácter hidrofílico del material se evaluó mediante mediciones del ángulo de contacto. En la Figura 3.16 se observa que la incorporación de cualquiera de los SRGDs transforma al EH que, por sí solo, presenta un comportamiento hidrofóbico en un material hidrofílico, con ángulos de contacto menores a 90° .

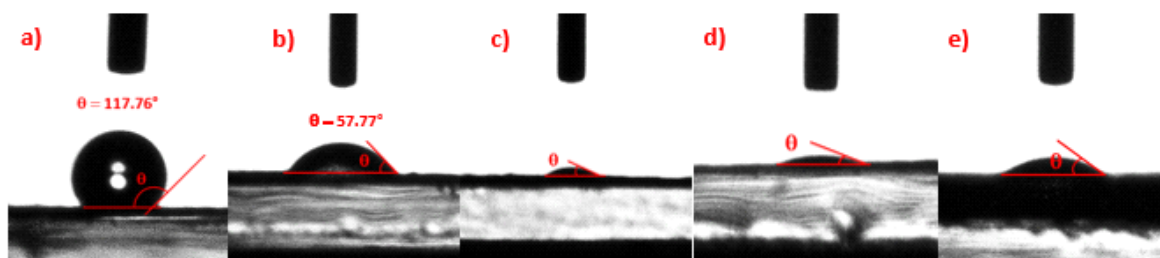


Figura 3.16. Medición del ángulo de contacto de los andamios: a) PLA, b) PLA/SRGD 2:1/50°C, c) PLA/SRGD 3:1/50°C, d) PLA/SRGD 2:1/90°C y e) PLA/SRGD 3:1/90°C.

Este cambio del carácter hidrofóbico del EH se debe al anclaje de los productos generados mediante la amidación térmica: SRGDs, amoníaco, agua y anhídridos cíclicos; además de la presencia de urea y ácido cítrico que no reaccionaron. Todos los compuestos previamente mencionados tienen la capacidad de formar puentes de hidrógeno con moléculas agua, ocasionando que, al anclarse al PLA

mediante interacciones secundarias, como se muestran en la Figura 3.17, aumente la hidrofiliidad de este material.

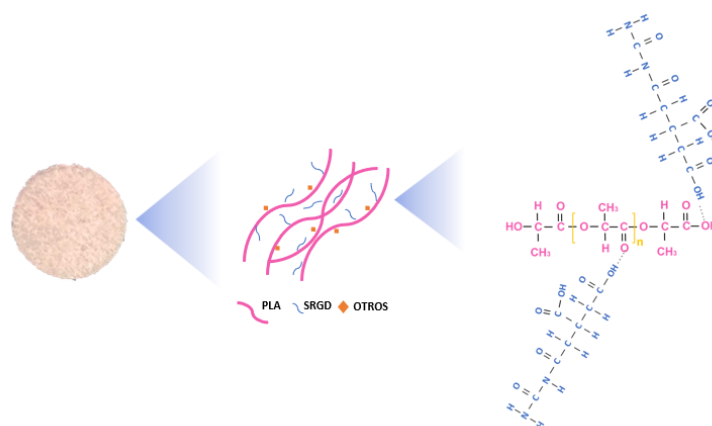


Figura 3.17. Propuesta de posible interacción entre SRGD y PLA electrohilado.

El apósito PLA/SRGD con menor hidrofiliidad es el 2:1/50°C con un ángulo de 57.77°, la explicación de esto son los productos resultantes con estas condiciones de reacción, según María Alejandra Hernández Santana (2014), para que la reacción de amidación térmica se lleve a cabo son necesarias temperaturas mayores a 90°C, por lo que es probable que no haya presencia de SRGDs, el cual es el compuesto que, debido a su estructura química, genera una disminución pronunciada de hidrofiliidad. Esto sumado a que la relación molar urea: ácido cítrico es de 2:1 dejando una menor cantidad de urea y mayor cantidad de ácido en comparación con las otras síntesis, dando la posibilidad de una mayor generación de anhídridos cíclicos, los cuales poseen una menor hidrofiliidad comparada con los otros posibles productos planteados. Sin embargo, para

confirmar esto es necesario la identificación de los productos generados, mediante el uso de técnicas como resonancia magnética nuclear (RMN) o cromatografía de líquidos.

3.3.3. Viabilidad celular de los apósitos PLA/SRGD

El objetivo del uso de los SRGDs es promover la cicatrización de las heridas mediante la promoción de la adhesión de los fibroblastos al andamio del EH. Aunque la prueba de viabilidad celular no mide directamente esta propiedad, es esencial para confirmar que los productos obtenidos no presenten efectos citotóxicos. A través del ensayo MTT y un análisis estadístico de Dunnett ($p < 0.05$), se obtuvieron los resultados que se presentan en la Figura 3.18.

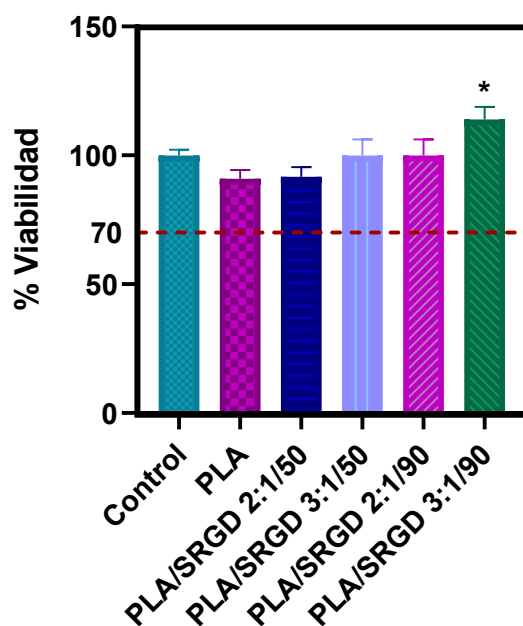


Figura 3.18. Porcentaje de viabilidad celular mediante ensayo MTT para la determinación de la viabilidad celular de PLA/SRGDs. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)

En la gráfica se observa que ninguno de los SRGDs sintetizados induce citotoxicidad, siendo el SRGD, sintetizado con una relación molar urea: ácido cítrico 3:1 a una temperatura de reacción de 90°C, el que presenta una diferencia estadísticamente significativa respecto al control con un porcentaje de viabilidad del 113.99 %, lo que sugiere su potencial para su aplicación en apósitos para heridas.

Zou et al. (2016), sugiere que hidrofiliidad de la superficie juega un papel relevante mejorando la adhesión y crecimiento celular, por lo que el resultado se le atribuye principalmente a la estructura química del SRGD obtenido a estas condiciones conformada por ramificaciones tipo imida, la cual cuenta con más punto de anclaje, favoreciendo así la interacción con las células 3T3, promoviendo así su viabilidad. Es importante destacar que, mediante esta caracterización, se evalúa la supervivencia celular en el medio, confirmando que los SRGDs sintetizados no afectan negativamente a las células.

3.4. Discusión de resultados del apósito polimérico PLA/SRGD/Ext.

Con base en los resultados obtenidos de las pruebas de ángulo de contacto, viabilidad celular y prueba de irritación en el caso de los concentrados, los cuales se resumen en la Tabla 3.5, se eligió el extracto *C. Officinalis* acuoso 50µg/ml (CA50) y el SRGD sintetizado con una relación molar de urea:ácido cítrico de 3:1 a

una temperatura de reacción de 90°C, como aditivos para el apósito polimérico para quemaduras final *PLA/3:1/90°C/CA50*, siendo éstos los que muestran mejores resultados en su desempeño como promotores de la actividad celular, el cual se espera verse reflejado en el proceso de curación de una quemadura, promoviendo su cicatrización.

Tabla 3.6. Resultados de extractos y SRGDs obtenidos.

Resultados de los Extractos			
Extracto	Ángulo de contacto	Viabilidad celular	Prueba de irritación
<i>C. Officinalis</i> acuoso 50µg/ml (CA50)	54.67°	SI (126.28%)	No irritante
<i>C. Officinalis</i> etanólico 50µg/ml (CE50)	100.43°	SI (94.49%)	No irritante
<i>C. Officinalis</i> acuoso 20µg/ml (CA20)	101.13°	SI (116.42%)	No irritante
<i>C. Officinalis</i> etanólico 20µg/ml (CE20)	94.6°	SI (92.35%)	No irritante
<i>D. Stramonium</i> acuoso 20µg/ml (DA20)	76.28°	SI (107.48%)	Ligeramente irritante
<i>D. Stramonium</i> etanólico 20µg/ml (DE20)	110.34°	SI (101.56%)	Ligeramente irritante
Resultados de los SRGDs			
SRGD	Ángulo de contacto	Viabilidad celular	
<i>2:1/50°C</i>	57.77°	SI (91.68%)	
<i>2:1/90°C</i>	0°	SI (99.957%)	
<i>3:1/50°C</i>	0°	SI (99.957%)	
<i>3:1/90°C</i>	0°	SI (113.99%)	

Con la finalidad de evaluar el desempeño del apósito *PLA/3:1/90°C/CA50* en las pruebas ángulo de contacto, porcentaje de viabilidad celular y proliferación *in vitro*, se comparó con el apósito comercial *SupraSDRM®* de la marca *PolyMedics Innovations*. Este apósito se describe como una matriz de cierre de heridas

optimizada y probada para tratar heridas crónicas y difíciles de curar, cuyo componente principal es poli (ácido láctico) (PLA).

3.4.1. Caracterización por FTIR de apósito PLA/SRGD/Ext.

En la Figura 3.19 se compara el espectro de FTIR del apósito final con el FTIR del electrohilado de PLA, con la finalidad de observar si se logra presenciar alguna banda que indique la presencia del SRGD 3:1/90°C o del extracto CA50. Al analizar los espectros, se observa que éstos son muy similares y no se detectó la presencia de alguna banda que evidencie que dichos aditivos se encuentran en el andamio, únicamente encontrándose las bandas correspondientes al PLA.

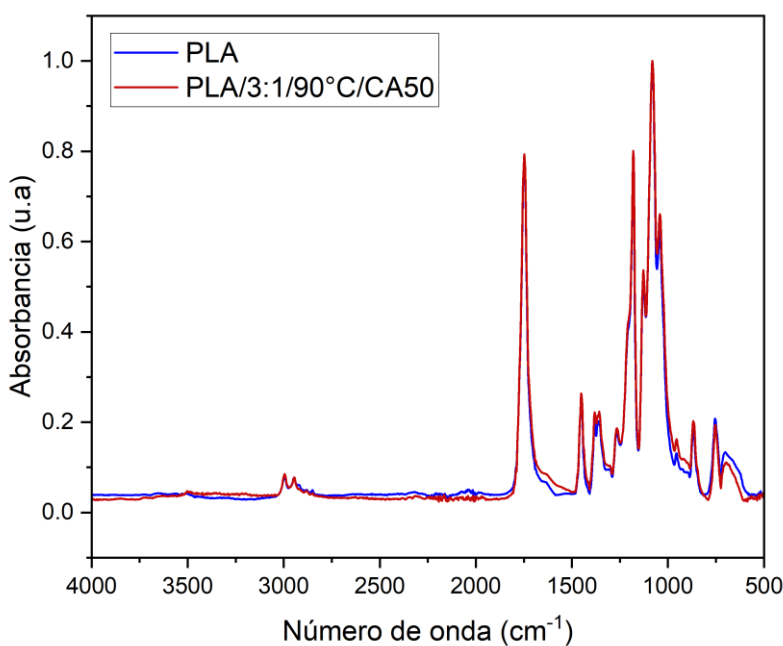


Figura 3.19. Espectros de FTIR de PLA (azul) y PLA/3:1/90°C/CA50 (rojo).

Existen varias posibles explicaciones de esta situación, además de la posible ausencia de dichos compuestos debido a su remoción por lavado durante el proceso de fabricación del apósito, lo cual se reafirmaría si en ninguna de las demás caracterizaciones (ángulo de contacto, viabilidad celular y proliferación celular) hubiese una diferencia entre el electrohilado de PLA y el apósito PLA/3:1/90°C/CA50. Por lo anterior, una posible explicación es la baja concentración de los aditivos y el solapamiento espectral de sus bandas características con las bandas más intensas pertenecientes a la matriz principal, no siendo el FTIR-ATR lo suficientemente sensible para distinguirlas (Cuthbertson et al., 2024). Otra opción es que al no ser homogénea la composición química del apósito y el FTIR-ATR al ser un análisis superficial, entonces en el punto analizado no esté presente ningún compuesto químico que indique la presencia del aditivo, o en su defecto no con la suficiente concentración.

3.4.2. Caracterización por ángulo de contacto del apósito PLA/SRGD/Ext.

Los resultados de la medición del ángulo de contacto del apósito PLA/3:1/90°C/CA50 (Figura 3.20 d) tienen un valor de 67.54° categorizándose como un material de carácter hidrofílico. Comparado con el EH de PLA cuyo ángulo es de 117.76° (Figura 3.20 a) el cual es hidrofóbico, es evidente una clara disminución en el ángulo de contacto y por ende un aumento en la hidrofiliidad, la cual se atribuye a la presencia de la molécula SRGD 3:1/90°C y del extracto CA50, que pueden estar anclados a la cadena de PLA mediante interacciones secundarias como puentes de hidrógeno.

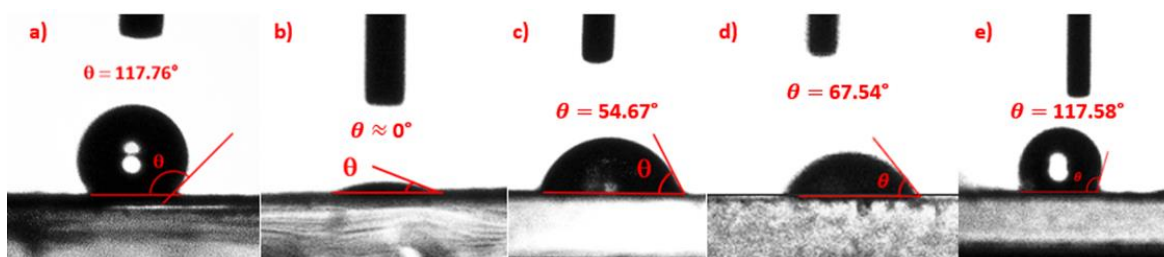


Figura 3.20. Medición del ángulo de contacto de los andamios: a) PLA, b) PLA/SRGD, c) PLA/CA50, d) PLA/SRGD/CA50 and e) Comercial.

Por otro lado, se ve una clara disminución en la hidrofiliidad del apósito final *PLA/3:1/90°C/CA50* comparado con los apósitos *PLA/3:1/90°C* y *PLA/CA50* cuyos ángulos son 0° y 54.07° respectivamente, como se muestra en la Figura 3.20 b y c. Una posible razón por lo que ocurre esta disminución de la hidrofiliidad es el proceso de impregnación del EH con los aditivos. Al impregnar primero el EH con el SRGD y posteriormente sumergir este apósito en la solución del extracto acuoso CA50, pudo ocurrir el lavado parcial de esta molécula de adhesión celular la cual justamente es la que tiene una mayor influencia en el carácter hidrofílico del PLA.

Sin embargo, al comparar el apósito *PLA/3:1/90°C/CA50* con el apósito comercial *SupraSDRM®* se observa que el primero es más hidrofílico que el segundo con carácter hidrofóbico (117.58°). Por otro lado, se sabe que la hidrofiliidad ayuda a que el material absorba el exudado de la herida y mantenga un ambiente húmedo que facilite el proceso de cicatrización, además de que es evidencia de que la presencia del SRGD y los compuestos del extracto CA50 promueven la actividad celular de los fibroblastos; y, por lo tanto, se espera que esta diferencia del

carácter hidrofílico represente una ventaja funcional del apósito *PLA/3:1/90°C/CA50* comparado con el comercial.

3.4.3. Viabilidad celular del apósito *PLA/SRGD/Ext.*

Con respecto a la prueba de viabilidad celular con células 3T3 que se realizó con los apósitos *PLA/3:1/90°C/CA50* y el comercial *SupraSDRM®*, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 3.21 aunados a los de PLA como control, *PLA/3:1/90°C* y *PLA/CA50*. A partir de dichos resultados, se puede decir que con base en la norma ISO 10993-5:2009, ningún apósito es citotóxico, ya que todos exhiben un porcentaje de viabilidad mayor al 70%.

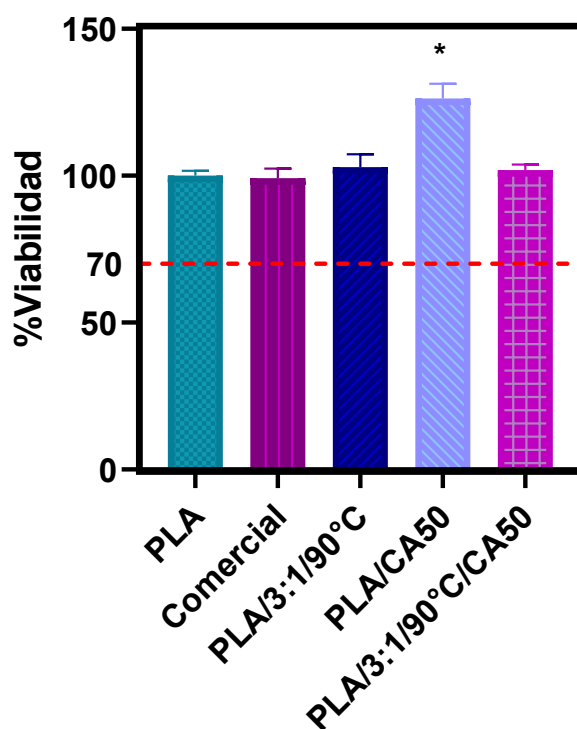


Figura 3.21. Porcentaje de viabilidad celular de células 3T3 mediante ensayo MTT de: PLA, Comercial (SupraSDRM®), PLA/3:1/90°C, PLA/CA50 y PLA/3:1/90°C/CA50. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)

Analizando los resultados de porcentaje de viabilidad celular, solo el apósito PLA/CA50 presenta una diferencia estadísticamente significativa, con un valor de 126.28%, mientras que los demás apósitos tienen valores alrededor del 100% el cual corresponde al EH de PLA que se utilizó como control. El principio del ensayo MTT consiste en que las enzimas mitocondriales de células vivas reduzcan el compuesto del MTT en formazán, siendo así un indicativo de la viabilidad celular basada en la actividad metabólica de dichas células (Gerlier & Thomasset, 1986). Con base en esta explicación, un valor mayor al 100% de viabilidad celular puede ser ocasionado por un incremento en la actividad metabólica de las células. Esto se puede interpretar como dos posibles situaciones, por un lado, aumento de la actividad metabólica ocasionada por el incremento de células vivas (proliferación celular) o bien por una actividad metabólica debida a la estimulación mitocondrial sin cambio en el número de células (Terry L Riss et al., 2016). Para determinar cuál es la causa de este incremento en el porcentaje de viabilidad celular, es necesario realizar una prueba que mida la proliferación celular, como por ejemplo un ensayo BrdU.

En la Figura 3.22 se muestran los resultados de un ensayo MTT utilizando tejido de la piel de un ratón *Balb/c* en vez de las células 3T3, el cual fue expuesto a los apósitos EH PLA, comercial *SupraSDRM®*, PLA/3:1/90°C/CA50 y PLA/3:1/90°C. Como se observa, ninguno muestra una diferencia estadísticamente significativa

con respecto al control, por lo que es indicativo de que no induce muerte en las células presentes en dicho tejido. Este resultado confirma la posible aplicación del apósito PLA/3:1/90°C/CA50 como un tratamiento biomédico potencial, debido a que se está estudiando en un tejido de piel animal; es decir en un ambiente más cercano a la aplicación real.

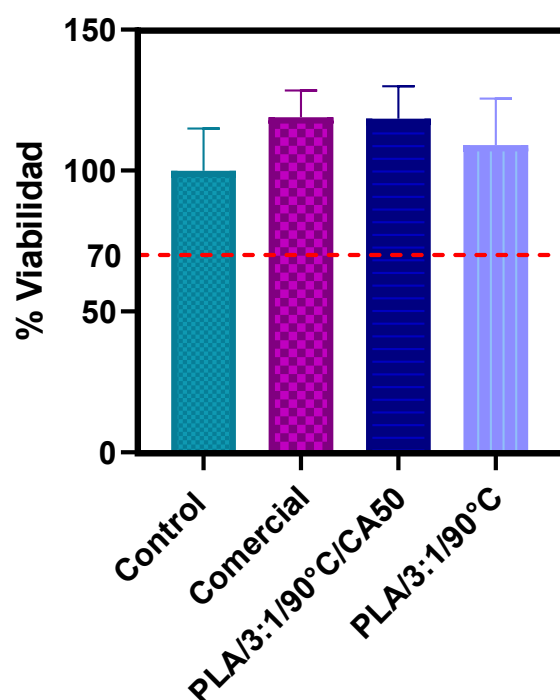


Figura 3.22. Porcentaje de viabilidad celular de tejido de ratón mediante ensayo MTT de: PLA, Comercial (SupraSDRM®), PLA/3:1/90°C/CA50 y PLA/3:1/90°C. Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)

3.4.4. Pruebas de proliferación celular.

Se realizó una prueba de proliferación celular mediante la técnica BrdU con la finalidad de observar si los apósitos promueven la división celular. Esta técnica

consiste en medir la tasa de proliferación celular a través de la incorporación de BrdU en el ADN durante la síntesis de nuevo material genético, reflejado en la intensidad colorimétrica que es proporcional al nivel de división celular, por lo cual el resultado se muestra en absorbancia (Abcam, 2025). En la Figura 3.23 se muestran los resultados obtenidos de proliferación celular del control (células 3T3 sin tratamiento), PLA, PLA/CA50, PLA/3:1/90°C, PLA/3:1/90°C/CA50 y el apósito comercial *SupraSDRM*®.

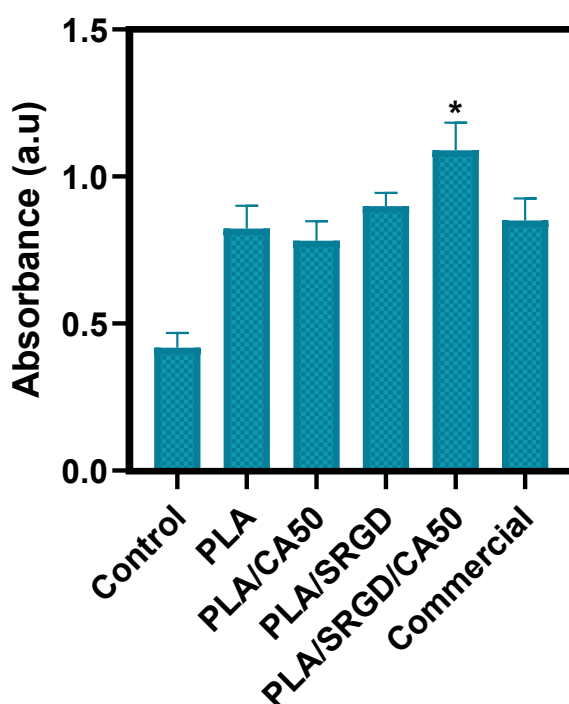


Figura 3.23. Absorbancias resultantes de prueba de proliferación celular de 3T3 mediante ensayo BrdU de: PLA, PLA/CA50, PLA/3:1/90°C, PLA/3:1/90°C/CA50 y Comercial (*SupraSDRM*®). Análisis estadístico Dunnett ($p < 0.05$)

Analizando los resultados, se observa que todas las muestras que fueron expuestas a los apósitos muestran una mayor proliferación celular comparadas con el control, siendo el de mayor absorbancia, y por ende el de mayor división celular, el apósito *PLA/3:1/90°C/CA50*. Esto podría ser indicio de una interacción sinérgica entre el SRGD y el extracto CA50. Por un lado, las moléculas del SRGD promueven la adhesión celular de los fibroblastos en la matriz electrohilado de PLA, permitiéndoles ejercer eficientemente sus funciones clave (migración, proliferación, síntesis de ECM, contracción y remodelación), acelerando la cicatrización y mejorando la calidad del tejido reparado (Fernandez et al., 2018). Mientras que el extracto de *C. Officinalis* acuoso (CA50) estimula la proliferación celular debido a la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, los cuales tienen propiedades antioxidantes que favorecen la reproducción celular de los fibroblastos (Ashwlayan et al., 2018; Rezai et al., 2023).

Por otro lado, cabe recordar que en los resultados de viabilidad celular el apósito impregnado únicamente con CA50 presentó un porcentaje de viabilidad celular de 126.28%, siendo el más alto y el único estadísticamente diferente. Esto se debe a un incremento en la actividad metabólica de las células generado por un incremento de células vivas (proliferación celular) o por estimulación mitocondrial sin cambio en el número de células. Al analizar los resultados obtenidos en esta prueba de proliferación se observa que el apósito PLA/CA50 si bien presenta un incremento en el número de células presentes, no es mayor al de los apósitos PLA, PLA/3:1/90°C y el comercial, lo que indica que esa diferencia de viabilidad

celular se puede deber a una estimulación de la actividad metabólica de las células 3T3 sin generar un cambio en la cantidad de células presentes. Esto se puede deber a la presencia de flavonoides, terpenoides y carotenoides los cuales al tener propiedades antioxidantes reducen el estrés oxidativo de los fibroblastos optimizando así su actividad metabólica sin aumentar el número de células (Shahane et al., 2023).

3.4.5. Pruebas in vivo del apósito PLA/SRGD/CA50.

En la Figura 3.24 se presentan las mediciones realizadas a las heridas de la ratona durante el periodo de veintiún días, donde se evaluaron tanto el apósito comercial *SupraSDRM*® como el apósito *PLA/3:1/90°C/CA50* desarrollado en este proyecto de investigación. El propósito fue evaluar el desempeño de ambos apósitos en relación con el tiempo de cicatrización.

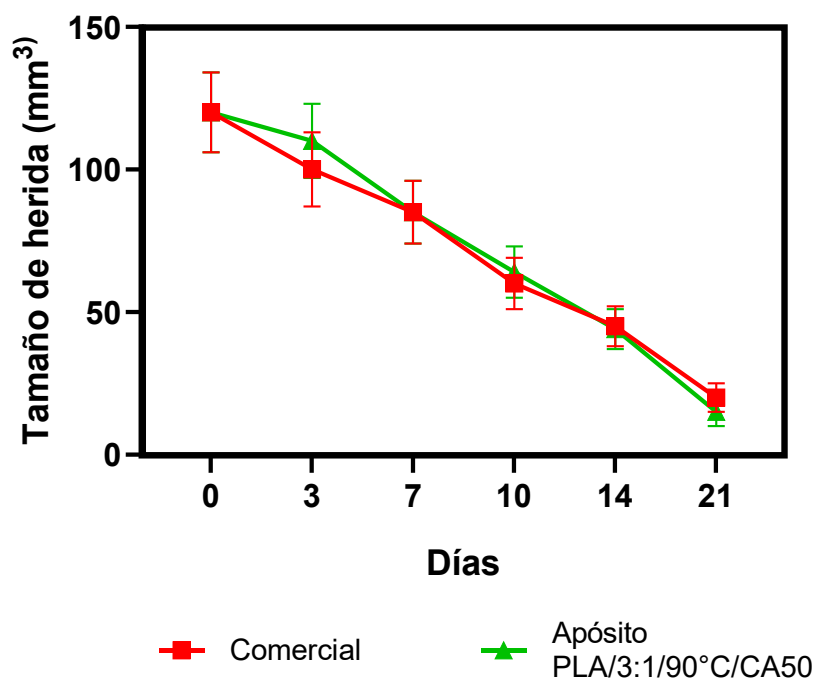


Figura 3.24. Mediciones de las heridas durante 21 días: tratamiento comercial *SupraSDRM®* (rojo) y apósito *PLA/3:1/90°C/CA50* (verde).

En los resultados de la Figura 3.24 se observa que ambos apósitos promueven el proceso de cicatrización. Sin embargo, el apósito *PLA/3:1/90°C/CA50* presentó un mejor cierre de herida a los 21 días con un valor de 15 mm³, comparado con el comercial que tuvo un valor de 20 mm³. Ambos apósitos, comercial y *PLA/3:1/90°C/CA50*, están formulados con base en PLA, considerando que la descripción del apósito comercial dice que su material principal es un copolímero sintético basado en la lactida. Al observar los resultados de ángulo de contacto, de viabilidad celular y de proliferación celular del apósito comercial y el electrohilado de PLA sólo, son muy similares, la diferencia radica en la presencia de la molécula SRGD 3:1/90°C y el extracto CA50 en el apósito de PLA. El SRGD 3:1/90°C incrementó la hidrofiliidad del material la cual promovió la adhesión de los

fibroblastos, ya que mejoró la interacción célula- andamio necesaria para la proliferación y actividad celular lo que se ve reflejada en mayor promoción del proceso de cicatrización (Dai et al., 2025; Miranda Altamirano, 2020; Niemczyk-Soczynska et al., 2020). Por otro lado, la presencia del extracto acuoso de *C. officinalis*, genera un incremento en la actividad mitocondrial de las células debido a la presencia de flavonoides y triterpenoides los cuales reducen el estrés oxidativo intercelular permitiendo que éstos mantengan su metabolismo activo y proliferen (Sapkota & Kunwar, 2024). Además, están las propiedades antiinflamatorias que evitan la liberación de citocinas proinflamatorias las cuales son generadoras de estrés oxidativo (Shahane et al., 2023).

En Figura 3.25 a) se muestra la imagen del análisis histológico realizado a un segmento de tejido extraído de la ratona, el cual no está lesionado. En éste se observa la presencia de la dermis y elementos como la queratina, vellos, folículos pilosos, glándulas sebáceas y músculo carnoso. En esta imagen no se aprecia la epidermis, pero esto puede deberse a que ésta es muy delgada y con esta técnica de tinción (H&E), la epidermis puede confundirse con queratina o no contrastar lo suficiente para ser observada (Cardoso et al., 2017).

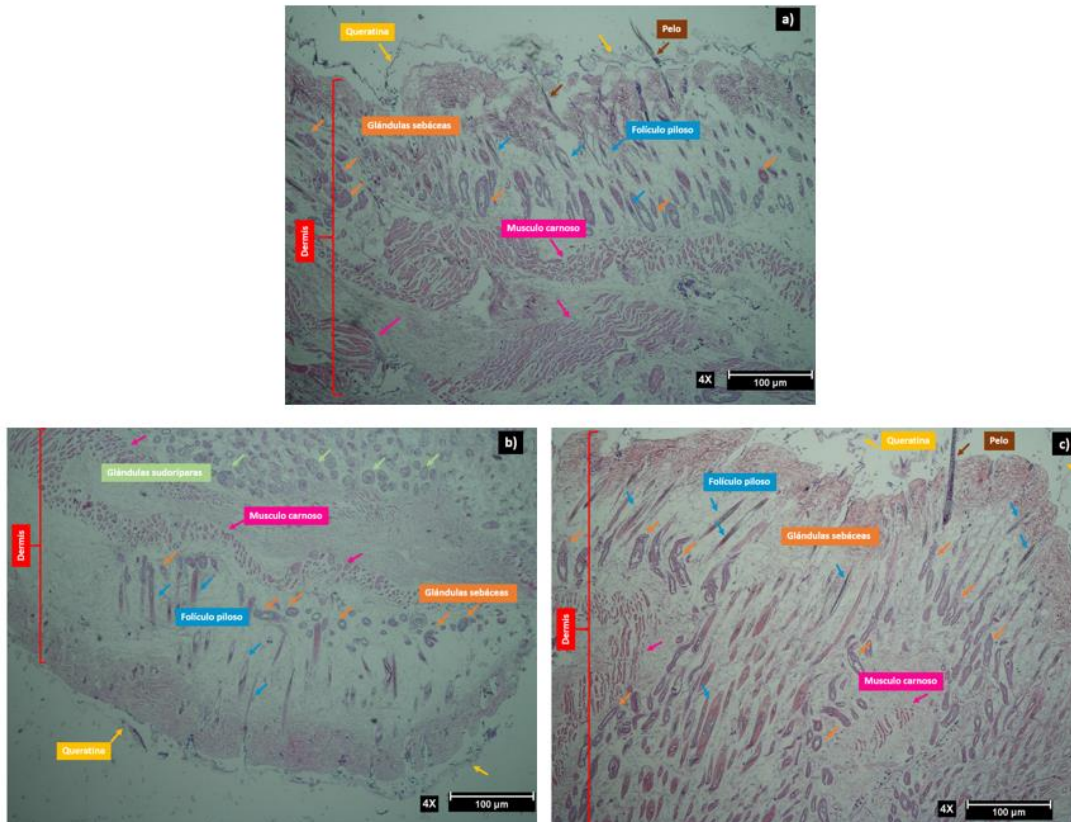


Figura 3.25. Corte histológico a 4x de un segmento de tejido de ratón Balb/C; a) sin lesionar; b) lesionada, tratada con el apósito comercial SupraSDRM®; c) lesionada, tratada con el apósito PLA/3:1/90°C/CA50. Utilizando una tinción convencional de hematoxilina y eosina (H&E).

En la Figura 3.25 b) se muestra el corte histológico correspondiente al tejido lesionado que fue tratado con el apósito comercial SupraSDRM®, comparando éste con el del tejido sin lesionar, se observa una clara disminución de la presencia de folículos pilosos y glándulas sebáceas, además de el grosor y distribución de las fibras de colágeno las cuales se ven mas delgadas con respecto a las de la piel sana, sin daño alguno. En tanto que en la Figura 3.25 c) se presenta el corte histológico correspondiente al tejido tratado con el apósito

PLA/3:1/90°C/CA50, el cual tiene mayor parecido al tejido previo al daño, en cuanto a la presencia de folículos pilosos, glándulas sebáceas y distribución y grosor de las fibras de colágeno presentes. Esto da indicios de que el tejido regenerado en presencia de este apósito, tiene mayor similitud al tejido sano sin daño, que el tejido que se regeneró en presencia del apósito comercial. Además, está el hecho de que estos tejidos no estaban completamente cicatrizados al cabo de 21 días, aunque el cierre de la lesión fue mayor en la lesión expuesta al apósito PLA/3:1/90°C/CA50, por lo es de esperar que su estructura sea mas parecida a la del tejido previo al daño, comparado con el del apósito comercial cuyo cierre de lesión es menor y diferente al tejido sano.

Por otro lado, al evaluar la irritabilidad utilizando como referencia los parámetros de la OECD TG 404, no se observa la presencia de eritemas, edemas ni la presencia de escaras en ninguno de los tratamientos, siendo estos apósitos clasificados como “*materiales no irritantes*”. Esto se confirma con la ausencia de espacios interfibrilares amplios y pérdida de la arquitectura de las capas principalmente.

Considerando lo discutido previamente el desempeño del apósito PLA/3:1/90°C/CA50 como promotor de cicatrización evaluado *in vivo* es evidente su potencial uso como tratamiento de heridas, y más considerando que, por lo menos en esta evaluación de tiempo de cicatrización, es competitivo con un apósito comercial.

Conclusión general

El objetivo de esta investigación fue el diseño y desarrollo de un apósito polimérico, con base en PLA, conformado además por moléculas promotoras de adhesión celular y extractos de plantas naturales para favorecer la retención de agua y la biocompatibilidad celular, con el fin de crear una estructura que promoviera la proliferación celular para facilitar el proceso de cicatrización de piel.

Para lograr el objetivo anterior, se sintetizó una molécula promotora de adhesión celular (SRGD) que, comparada con moléculas sintetizadas mediante la misma reacción, pero con distintos parámetros de relación molar y temperatura de reacción, inducen mayor hidrofiliidad al electrohilado de PLA y presentan mayor viabilidad celular que electrohilados con PLA sin dicho aditivo. Esto se debe a la presencia de los grupos funcionales amina, amidas, e hidroxilo, que contiene SRGD, los cuales proporcionan el carácter hidrofílico al andamio electrohilado.

En la evaluación de los extractos, tanto acuosos como etanólicos, de *C. officinalis* y *D. stramonium* no se observaron efectos citotóxicos en las concentraciones analizadas. Asimismo, la combinación del andamio electrohilado (EH) con dichos extractos mostró valores de viabilidad celular más altos en comparación con la evaluación de los extractos por sí solos. Esto se atribuye a que el electrohilado de PLA actúa como andamio de soporte para las células, favoreciendo su adhesión y estimulando su actividad celular. El extracto acuoso de *C. officinalis* a 50 µg/ml (CA50) presentó los mejores resultados en cuanto al ángulo de contacto y viabilidad celular debido a los compuestos químicos presentes en éste.

Los resultados viabilidad y proliferación celular de la combinación del EH de PLA impregnado con el SRGD y el extracto CA50 fueron comparables e incluso superiores a los valores de un apósito comercial probado (*SupraSDRM®*), dando evidencia de su potencial uso como tratamiento para heridas de quemaduras.

Perspectivas

En este proyecto de tesis se plantean las siguientes perspectivas:

- Determinar la composición química tanto cualitativa como cuantitativa de la molécula del SRGD utilizando la técnica de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) o resonancia magnética nuclear (RNM).
- Determinar la composición química del extracto de *C. officinalis* a 50 µg/ml de forma cualitativa y cuantitativa, mediante la técnica de cromatografía de líquidos (HPLC).
- Realizar un ensayo de degradación *in vitro* con cultivo celular y en presencia de fluido corporal simulado (SFB) con la finalidad de determinar su tiempo de uso hasta la degradación.
- Observar *in vivo* su desempeño en la disminución del tiempo de cicatrización en heridas por quemaduras.
- Evaluar sus características mecánicas con la finalidad de evaluar su resistencia y capacidad de acomodo a los esfuerzos del área donde se va a aplicar.

Bibliografía

- Abcam. (2025). *brdu-cell-proliferation-elisa-kit-protocol-book-v9c-ab126556*.
https://www.abcam.com/en-us/products/elisa-kits/brdu-cell-proliferation-elisa-kit-colorimetric-ab126556?srsId=AfmBOoqoQVce27Kic71-tR7oNEpw5_tjx7KGV7vHrrWs21BFN5FCkORj
- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Zabermawi, N. M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Abd El-Hakim, Y. M., & Al-Sagheer, A. A. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 164, pp. 2726–2744). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153>
- Abdo, J. M., Sopko, N. A., & Milner, S. M. (2020). The applied anatomy of human skin: A model for regeneration. In *Wound Medicine* (Vol. 28). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100179>
- Adam, S. I. Y., & Idris, S. K. D. (2017). *PROXIMATE COMPOSITION, PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DATURA STRAMONIUM L. LEAVES EXTRACT*. www.ejpmr.com
- Agarwal, S., Wendorff, J. H., & Greiner, A. (2008). Use of electrospinning technique for biomedical applications. In *Polymer* (Vol. 49, Issue 26, pp. 5603–5621). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.09.014>
- Andrew Haynes. (2014, December 12). *Beware the psychedelic effects of zombie cucumber*. The Pharmaceutical Journal. <https://pharmaceutical-journal.com/article/opinion/beware-the-psychedelic-effects-of-zombie-cucumber>
- Anhidridos*. (2001).
- Ashwlayan, V. D., Kumar, A., Verma, M., Garg, V. K., & Gupta, S. (2018). Therapeutic Potential of *Calendula officinalis*. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 6(2). <https://doi.org/10.15406/ppij.2018.06.00171>

- Bagamla, W., Raphael, D., Massai, H., & Benguella Benoit, L. (2021). Adsorption of Triterpene Extracts of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) Leaves by Local Kaolin from Boboyo, Far North Region (Cameroon). *American Journal of Chemical and Biochemical Engineering*, 5(1), 8. <https://doi.org/10.11648/j.ajcbe.20210501.12>
- Bahramsoltani, R., Farzaei, M. H., & Rahimi, R. (2014). Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: An integrative review. In *Archives of Dermatological Research* (Vol. 306, Issue 7, pp. 601–617). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00403-014-1474-6>
- Ballestín, A., Casado, J. G., Abellán, E., Vela, F. J., Alvarez, V., Usón, A., Lopez, E., Marinaro, F., Blazquez, R., & Sanchez-Margallo, F. M. (2018). Ischemia-reperfusion injury in a rat microvascular skin free flap model: A histological, genetic, and blood flow study. *PLoS ONE*, 13(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209624>
- Barbieri, J. S., Wanat, K., & Seykora, J. (2014). Skin: Basic Structure and Function. In *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms* (pp. 1134–1144). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.03501-2>
- Bazualdo Fiorini, E., Mogrovejo Iñaguazo, E. F., Zambrano Salazar, P. G., Castro Pomaquiza, J. R., & Niveló Zumba, J. E. (2023). Injertos en quemaduras. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 4(2). <https://doi.org/10.56712/latam.v4i2.788>
- Bernal-Avila, F. J., Pardo Cuervo, O. H., & Segura Guerrero, N. A. (2024). Apósitos a base de almidón: revisión sistemática sobre métodos de caracterización fisicoquímica y su potencial en la cicatrización de heridas. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 25(2). https://doi.org/10.21930/rcta.vol25_num2_art:3612
- Bhardwaj, N., & Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. In *Biotechnology Advances* (Vol. 28, Issue 3, pp. 325–347). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004>

- Bîrcă, A. C., Chircov, C., Niculescu, A. G., Hildegard, H., Baltă, C., Roşu, M., Mladin, B., Gherasim, O., Mihaiescu, D. E., Vasile, B. Ştefan, Grumezescu, A. M., Andronescu, E., & Hermenean, A. O. (2023). H₂O₂-PLA-(Alg)₂Ca Hydrogel Enriched in Matrigel® Promotes Diabetic Wound Healing. *Pharmaceutics*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030857>
- Bolgiani, A., Serra, C., & Benaim, F. (2019). *Capítulo 22 Las quemaduras y su tratamiento inicial*.
- Brocca, H., & Kuri, S. T. (2000). *Toloache, hierba del diablo*. www.liberaddictus.org/NumAnt.php
- Buendía Eisman, A., Mazuecos Blanca, J., & Camacho Martínez, F. M. (2018). 2 *MANUAL DE DERMATOLOGÍA, 2.a EDICIÓN-VOLUMEN I ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA PIEL*.
- Cambroner Ulate, P., Cerdas Fernández, A., & Chang Chen, V. (2022). Fisiopatología de la cicatrización patológica. *Revista Medica Sinergia*, 7(5), e820. <https://doi.org/10.31434/rms.v7i5.820>
- Cañedo-Dorantes, L., & Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin acute wound healing: A comprehensive review. In *International Journal of Inflammation* (Vol. 2019). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2019/3706315>
- Cárdenas, L. E., & Gonzaga Jaya, A. M. (2022). Medicina de Urgencias. In *QUEMADURAS Pérez-Ramírez J* (Vol. 2).
- Cardoso, J. C., Veraitch, O., Gianotti, R., Ferrara, G., Tomasini, C. F., Singh, M., Zalaudek, I., & Stefanato, C. M. (2017). 'Hints' in the horn: diagnostic clues in the stratum corneum. In *Journal of Cutaneous Pathology* (Vol. 44, Issue 3, pp. 256–278). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/cup.12839>
- Casasola, R., Thomas, N. L., Trybala, A., & Georgiadou, S. (2014). Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres: Effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter. *Polymer*, 55(18), 4728–4737. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.06.032>

- Castro-Aguirre, E., Iñiguez-Franco, F., Samsudin, H., Fang, X., & Auras, R. (2016). Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 107, pp. 333–366). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.010>
- Catauro, M., Papale, F., Bollino, F., Piccolella, S., Marciano, S., Nocera, P., & Pacifico, S. (2015). Silica/quercetin sol-gel hybrids as antioxidant dental implant materials. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16(3). <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/3/035001>
- Clasificación de quemaduras*. (2021, June 2). Water-Jel.
- Cortés, M. Y., Directora, S., Maura, D. C., & García, C. (2020). *Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Cuthbertson, A. A., Lincoln, C., Miscall, J., Stanley, L. M., Maurya, A. K., Asundi, A. S., Tassone, C. J., Rorrer, N. A., & Beckham, G. T. (2024). Characterization of polymer properties and identification of additives in commercially available research plastics. *Green Chemistry*, 26(12), 7067–7090. <https://doi.org/10.1039/d4gc00659c>
- Dai, W., Wu, Y., Chen, K., Xie, X., Chen, L., Chen, M., Wang, J., Wang, D., & Liu, R. (2025). RGD peptide-mimicking random copolymers synthesized *via* rapid and controllable NCA polymerization to promote cell adhesion. *Polymer Chemistry*, 16(23), 2732–2741. <https://doi.org/10.1039/D5PY00389J>
- Dai, Y., Ahmed, J., & Edirisinghe, M. (2023). Pressurized Gyration: Fundamentals, Advancements, and Future. In *Macromolecular Materials and Engineering* (Vol. 308, Issue 7). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/mame.202300033>
- De Jesús Rodríguez-Jiménez, T., Ojeda-Barrios, D. L., Blanco-Macías, F., Valdez-Cepeda, R. D., & Parra-Quezada, R. (2016). Ureasa y níquel en la fisiología de las plantas. In *Revista Chapingo, Serie Horticultura* (Vol. 22, Issue 2, pp. 69–81). Universidad Autonoma Chapingo. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2014.11.051>

- Desai, P. S., Parmar, B., Desai, F. P., & Patel, A. (2024). Thorn apple (*Datura stramonium*) extract acts as a sustainable corrosion inhibitor for zinc alloy in hydrochloric acid solutions. *Results in Surfaces and Interfaces*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.rsurfi.2023.100176>
- Diego Camps. (2008). rc08009. *Colombia Médica*, 39.
- Dzolkifle, N. A. N., & Wan Nawawi, W. M. F. (2024). A review on chitin dissolution as preparation for electrospinning application. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 265). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130858>
- Fang, H., Zhang, L., Chen, A., & Wu, F. (2022). Improvement of Mechanical Property for PLA/TPU Blend by Adding PLA-TPU Copolymers Prepared via In Situ Ring-Opening Polymerization. *Polymers*, 14(8). <https://doi.org/10.3390/polym14081530>
- Fernandez, T., Strudwick, X. L., Al-Bataineh, S., & Smith, L. E. (2018). *Surfaces to enhance matrix deposition for wound healing* (Vol. 26, Issue 4).
- Gaire, B. P., & Subedi, L. (2013). A review on the pharmacological and toxicological aspects of *Datura stramonium* L. In *Journal of Chinese Integrative Medicine* (Vol. 11, Issue 2, pp. 73–79). Journal of integrative medicine editorial office, Science Press. <https://doi.org/10.3736/jintegrmed2013016>
- Gerlier, D., & Thomasset, N. (1986). Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. In *Journal of Immunological Methods* (Vol. 94).
- Gholipour-Kanani, A., Bahrami, S. H., Joghataie, M. T., Samadikuchaksaraei, A., Ahmadi-Taftie, H., Rabbani, S., Kororian, A., & Erfani, E. (2014). Tissue engineered poly(caprolactone)-chitosan-poly (vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for burn and cutting wound healing. *IET Nanobiotechnology*, 8(2), 123–131. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2012.0050>
- Gnatowski, P., Gwizdała, K., Piłat, E., & Kucińska-Lipka, J. (2023). Polymers for burn dressings and skin substitutes. In *Polymeric Materials for Biomedical Implants*:

Characterization, Properties, and Applications (pp. 319–336). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99690-7.00011-X>

Gunjan, K., Shobha, C., Nanda, H., Sheetal, C., Vikrant, C., & Chitnis, D. S. (2012). A comparative study of the effect of different topical agents on burn wound infections. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 45(2), 374–378. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.101320>

Gushiken, L. F. S., Beserra, F. P., Bastos, J. K., Jackson, C. J., & Pellizzon, C. H. (2021). Cutaneous wound healing: An update from physiopathology to current therapies. In *Life* (Vol. 11, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/life11070665>

Gutiérrez-Sánchez, M., Escobar-Barrios, V. A., Pozos-Guillén, A., & Escobar-García, D. M. (2019). RGD-functionalization of PLA/starch scaffolds obtained by electrospinning and evaluated in vitro for potential bone regeneration. *Materials Science and Engineering C*, 96, 798–806. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.003>

Hardiansyah, A., Tanadi, H., Yang, M. C., & Liu, T. Y. (2015). Electrospinning and antibacterial activity of chitosan-blended poly(lactic acid) nanofibers. *Journal of Polymer Research*, 22(4), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10965-015-0704-8>

Hjouji, K., Barnossi, A. El, Er-raiy, M., Atemni, I., Grenha, A., Yagoubi, M., Ainane, T., Taleb, M., & Rais, Z. (2025). Inhibitory potency of active metabolites from different polarities of *Datura Stramonium* seed extracts: GC-MS analysis, biological evaluations, and molecular docking studies. *Journal of Medical Mycology*, 35(1). <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2024.101521>

Hosseinkazemi, H., Biazar, E., Bonakdar, S., Ebadi, M. T., Shokrgozar, M. A., & Rabiee, M. (2015). Modification of PCL Electrospun Nanofibrous Mat With *Calendula officinalis* Extract for Improved Interaction With Cells. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 64(9), 459–464. <https://doi.org/10.1080/00914037.2014.958835>

- Javid, H., Oryani, M. A., Rezagholinejad, N., Esparham, A., Tajaldini, M., & Karimi-Shahri, M. (2024). RGD peptide in cancer targeting: Benefits, challenges, solutions, and possible integrin–RGD interactions. In *Cancer Medicine* (Vol. 13, Issue 2). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/cam4.6800>
- Jeschke, M. G., van Baar, M. E., Choudhry, M. A., Chung, K. K., Gibran, N. S., & Logsetty, S. (2020). Burn injury. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0145-5>
- Jiménez Rocío, & García Francisco. (2018). *Tratamientos para quemaduras*.
- Joaquín, J., & Morales, S. (2016). *Hormesis: ¿Una cuestión de concentración?*
- Kanitakis, J. (2001). *John Libbey Eurotext - European Journal of Dermatology - Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin*. <https://www.researchgate.net/publication/11279803>
- Kharat, Z., Amiri Goushki, M., Sarvian, N., Asad, S., Dehghan, M. M., & Kabiri, M. (2021). Chitosan/PEO nanofibers containing Calendula officinalis extract: Preparation, characterization, in vitro and in vivo evaluation for wound healing applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 609. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121132>
- Kolarsick, P. A. J., Kolarsick, M. A., & Goodwin, C. (2011). Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3(4), 203–213. <https://doi.org/10.1097/JDN.0b013e3182274a98>
- Kordestani, S. S. (2019). *Atlas of Wound Healing*. <https://www.researchgate.net/publication/360756421>
- Kumar Verma, P., & Raina, R. (2014). PHYTOCHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTIOXIDANT POTENTIAL IN FLORAL EXTRACTS OF CALENDULA OFFICINALIS LINN. In *Article in World Journal of Pharmaceutical Research*. www.wjpr.net

- Kwiatkowski, P., Giedrys-Kalemba, S., Mizielińska, M., & Bartkowiak, A. (2016). MODIFICATION OF PLA FOIL SURFACE BY ETHYLCELLULOSE AND ESSENTIAL OILS. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 5(5), 440–444. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.5.440-444>
- Laura, M., & Lorenzo, D. (2018). *Synthesis, Structure and Properties of Poly(lactic acid)*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-64230-7>
- Letchuman, S., Madhuranga, H. D. T., Kaushalya, M. B. L. N., Premarathna, A. D., & Saravanan, M. (2024). Alkaloids Unveiled: A Comprehensive Analysis of Novel Therapeutic Properties, Mechanisms, and Plant-Based Innovations. *Intelligent Pharmacy*. <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2024.09.007>
- Liu, Z., Zheng, G., Wang, L., Wang, H., & Che, X. (2024). Pharmacodynamic study: Astragaloside IV/chitosan/polylactic acid composite electrospinning scaffold for wound healing in diabetic rats. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 96. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105632>
- Logan Hailey. (2024, April 19). *How to plant, grow, and care for calendula*. Epic Gardening. <https://www.epicgardening.com/growing-calendula/>
- Ma, M., & Rutledge, G. C. (2012). 7.10 - Nanostructured Electrospun Fibers. In *Polymer Science: a Comprehensive Reference: Volume 1-10* (Vols. 1–10, pp. 187–210). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00191-6>
- María Alejandra Hernández Santana. (2014). *Amidación Directa de Ácidos Carboxílicos Asistida por Microondas*. Universidad de los Andes Colombia.
- Mehta, P., Rasekh, M., Patel, M., Onaiwu, E., Nazari, K., Kucuk, I., Wilson, P. B., Arshad, M. S., Ahmad, Z., & Chang, M. W. (2021). Recent applications of electrical, centrifugal, and pressurised emerging technologies for fibrous structure engineering in drug delivery, regenerative medicine and theranostics. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 175). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.033>

- Miranda Altamirano, A. (2020). Dressing options in burns. *Cirugia Plastica Ibero-Latinoamericana*, 46, S31–S38. <https://doi.org/10.4321/S0376-78922020000200008>
- Mollazadeh, S., Mackiewicz, M., & Yazdimamaghani, M. (2021). Recent advances in the redox-responsive drug delivery nanoplateforms: A chemical structure and physical property perspective. In *Materials Science and Engineering C* (Vol. 118). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111536>
- Mondragón Juana, & Vibrans Heike. (2009, June 13). *Datura stramonium* L. Maleza de México.
- Mudalip, S. K. A., Bakar, Mohd. R. A., Adam, F., & Jamal, P. (2013). Structures and Hydrogen Bonding Recognition of Mefenamic Acid Form I Crystals in Mefenamic Acid/ Ethanol Solution. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 124–128. <https://doi.org/10.7763/ijcea.2013.v4.277>
- Niemczyk-Soczynska, B., Gradys, A., & Sajkiewicz, P. (2020). Hydrophilic surface functionalization of electrospun nanofibrous scaffolds in tissue engineering. In *Polymers* (Vol. 12, Issue 11, pp. 1–20). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/polym12112636>
- Nizyński, B., Alsoufi, A. S. M., Pączkowski, C., Długosz, M., & Szakiel, A. (2015). The content of free and esterified triterpenoids of the native marigold (*Calendula officinalis*) plant and its modifications in in vitro cultures. *Phytochemistry Letters*, 11, 410–417. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.12.017>
- Noor, A., Afzal, A., Masood, R., Khaliq, Z., Ahmad, S., Ahmad, F., Qadir, M. B., & Irfan, M. (2022). Dressings for burn wound: a review. In *Journal of Materials Science* (Vol. 57, Issue 12, pp. 6536–6572). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10853-022-07056-4>
- Nora Guadalupe Ramírez González. (2023). *UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSI FACULTAD DE CIENCIAS*.

- Norman, G., Christie, J., Liu, Z., Westby, M. J., Jefferies, J. M., Hudson, T., Edwards, J., Mohapatra, D. P., Hassan, I. A., & Dumville, J. C. (2017). Antiseptics for burns. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2017, Issue 7). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011821.pub2>
- Nowak-Terpiłowska, A., Nowak, I., Feliczak-Guzik, A., & Wyganowska, M. (2023). Analysis of the Impact of Ethanol Extract of *Calendula officinalis* L. on Human Fibroblast Cell Cultures Using the PANsys 3000 Device for Breeding and Visualization of Cells. *Life*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/life13101949>
- Obaíd, M. L., Riquelme, R., Calderón, W., Raue, M., & Rojas, M. (2018). Classification and score of necrosis in random skin flap in rats after treatment with transplantation of hypoxia preconditioned adipose-derived stem cells and flap delay. *Cirugia Plastica Ibero-Latinoamericana*, 44(3), 259–268. <https://doi.org/10.4321/S0376-78922018000300004>
- Oladipo, I. C., Lateef, A., Azeez, M. A., Asafa, T. B., Yekeen, T. A., Ogunsona, S. B., Irshad, H. M., & Abbas, S. H. (2020). Characterization and biomedical application of phytosynthesized gold nanoparticles from *Datura stramonium* seed extract. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 805(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/805/1/012021>
- Organisation for Economic Cooperation and Development. (2002). *OECD/OCDE 404 OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Acute Dermal Irritation/Corrosion*.
- Otuokere, I. E., Ikpeazu, O. V., & Igwe, K. K. (2020). GC-MS Analysis of Ethanol Root Extract of *Datura stramonium*. *International Journal of Advances in Engineering and Management (IJAEM)*, 2(3), 243. <https://doi.org/10.35629/5252-0203243253>
- Pelin, I. M., Sillion, M., Popescu, I., Rîmbu, C. M., Fundueanu, G., & Constantin, M. (2023). Pullulan/Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Loaded with *Calendula officinalis* Extract: Design and In Vitro Evaluation for Wound Healing Applications. *Pharmaceutics*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061674>

- Piipponen, M., Li, D., & Landén, N. X. (2020). The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 22, pp. 1–26). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21228790>
- Podgórska-Kryszczuk, I., & Pankiewicz, U. (2023). Assessment of the Fungistatic Properties of *Calendula officinalis* L. Water Extract and the Effect of Its Addition on the Quality of Wheat Bread. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/app13127286>
- Prete, S., Dattilo, M., Patitucci, F., Pezzi, G., Parisi, O. I., & Puoci, F. (2023). Natural and Synthetic Polymeric Biomaterials for Application in Wound Management. In *Journal of Functional Biomaterials* (Vol. 14, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/jfb14090455>
- Rautela, I., Birkbeck, P. D., Sharma, N., Dheer, P., Thapliyal, P., Joshi, T., & Sharma, M. D. (2018). GC-MS ANALYSIS OF PLANT LEAF EXTRACT OF *DATURA STRAMONIUM* IN DIFFERENT SOLVENT SYSTEM. www.ejbps.com
- Rezai, S., Rahzani, K., Hekmatpou, D., & Rostami, A. (2023). Effect of oral *Calendula officinalis* on second-degree burn wound healing . *Scars, Burns & Healing*, 9, 205951312211340. <https://doi.org/10.1177/20595131221134053>
- Rohani Shirvan, A., Nouri, A., & Sutti, A. (2022). A perspective on the wet spinning process and its advancements in biomedical sciences. In *European Polymer Journal* (Vol. 181). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111681>
- Romero-Serrano Id, A., & Pereira, J. (2020). *Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones / Review: Chitosan, a versatil biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications.*
- Rubaye, A. F. Al, Mohammed, G. J., & Hameed, I. H. (2018). Determination of alkaloid compounds of *datura stramonium* using Gc-Ms and Ftir and evaluation of its antibacterial, antifungal and anti-diabetic activity. *Indian Journal of Public Health*

Research and Development, 9(3), 363–369. <https://doi.org/10.5958/0976-5506.2018.00237.1>

Ruiz-Salgado, S., Salado-Leza, D. E., Reyes-Valderrama, M. I., & Rodriguez-Lugo, V. (2022). Revisión de compositos de biocerámicas y biopolímeros mediante electrohilado para su uso potencial como andamios para la sustitución de piel. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 10(Especial7), 32–47. <https://doi.org/10.29057/icbi.v10iespecial7.9905>

Sandra Lawton. (2019). Skin 1: the structure and functions of the skin. *Nursing Times*, 115(12).

Sapkota, B., & Kunwar, P. (2024). A Review on Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Calendula officinalis* Linn. In *Natural Product Communications* (Vol. 19, Issue 6). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/1934578X241259021>

Sayed, A., Elbalasy, I., & Mohamed, M. S. (2023). Novel β -Carotene and Astaxanthin-Producing Marine *Planococcus* sp.: Insights into Carotenogenesis Regulation and Genetic Aspects. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 195(1), 217–235. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-04148-4>

Shahane, K., Kshirsagar, M., Tambe, S., Jain, D., Rout, S., Ferreira, M. K. M., Mali, S., Amin, P., Srivastav, P. P., Cruz, J., & Lima, R. R. (2023a). An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of *Calendula officinalis* L. In *Pharmaceuticals* (Vol. 16, Issue 4). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ph16040611>

Shahane, K., Kshirsagar, M., Tambe, S., Jain, D., Rout, S., Ferreira, M. K. M., Mali, S., Amin, P., Srivastav, P. P., Cruz, J., & Lima, R. R. (2023b). An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of *Calendula officinalis* L. In *Pharmaceuticals* (Vol. 16, Issue 4). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ph16040611>

- Sharma, M., Dhaliwal, I., Rana, K., Kumar Delta, A., Kaushik, P., & Phytochemistry, P. (2021). *antioxidants Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of Datura Species-A Review*. <https://doi.org/10.3390/antiox1008>
- Singh, P. K., Singh, J., Medhi, T., & Kumar, A. (2022). Phytochemical Screening, Quantification, FT-IR Analysis, and in Silico Characterization of Potential Bio-active Compounds Identified in HR-LC/MS Analysis of the Polyherbal Formulation from Northeast India. *ACS Omega*, 7(37), 33067–33078. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c03117>
- Smith Brian C. (2020, January 1). *Organic Nitrogen Compounds, VII: Amides—The Rest of the Story*. Spectroscopy. <https://www.spectroscopyonline.com/view/organic-nitrogen-compounds-vii-amides-rest-story>
- Sorkhabi, T. S., Samberan, M. F., Ostrowski, K. A., Zajdel, P., Stempkowska, A., & Gawenda, T. (2022). Electrospinning of Poly (Acrylamide), Poly (Acrylic Acid) and Poly (Vinyl Alcohol) Nanofibers: Characterization and Optimization Study on the Effect of Different Parameters on Mean Diameter Using Taguchi Design of Experiment Method. *Materials*, 15(17). <https://doi.org/10.3390/ma15175876>
- Terry L Riss, Moravec Richard A, & Niles Andrew L. (2016). *Cell Viability Assays Assay Guidance Manual*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/>
- Ton, C., Salehi, S., Abasi, S., Aggas, J. R., Liu, R., Brandacher, G., Guiseppi-Elie, A., & Grayson, W. L. (2023). Methods of ex vivo analysis of tissue status in vascularized composite allografts. In *Journal of Translational Medicine* (Vol. 21, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04379-x>
- Tseomashko, N. E., Rai, M., & Vasil'kov, A. Y. (2021). New hybrid materials for wound cover dressings. In *Biopolymer-Based Nano Films: Applications in Food Packaging and Wound Healing* (pp. 203–245). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823381-8.00007-7>

- Úlceras Fuera. (2020, April). Según La Extensión. https://ulcerasfora.sergas.gal/Informacion/G5_Seg%C3%BAn-a-extensi%C3%B3n-queimaduras?idioma=es
- Wang, P. H., Huang, B. S., Horng, H. C., Yeh, C. C., & Chen, Y. J. (2018). Wound healing. In *Journal of the Chinese Medical Association* (Vol. 81, Issue 2, pp. 94–101). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>
- Weller, C. (2009). Interactive dressings and their role in moist wound management. In *Advanced Textiles for Wound Care: A Volume in Woodhead Publishing Series in Textiles* (pp. 97–113). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1533/9781845696306.1.97>
- Wiley, J., Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005). *SPECTROMETRIC IDENTIFICATION OF ORGANIC COMPOUNDS*.
- Wilfredo Lopez-Ojeda, & Amarendra Pandey. (2022, October 17). *Anatomy, Skin (Integument)*. Anatomy, Skin (Integument). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441980/>
- Yolanda Fernández Santervás, & Melé Casas María. (2020). 21_quemaduras. *Sociedad Española de Urgencias de Pediatría*.
- Zahraa Kadhum Al-Mussawl, & Ibtihal Muiz Al-Hussani. (2019). *PHYTOCHEMICAL STUDY OF CALENDULA OFFICINALIS PLANT BY USED GC-MS AND FTIR TECHNIQUES*.
- Zulkifli, M. Z. A., Nordin, D., Shaari, N., & Kamarudin, S. K. (2023). Overview of Electrospinning for Tissue Engineering Applications. In *Polymers* (Vol. 15, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/polym15112418>