

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO CITOTÓXICO DE *Ficus carica* SOBRE
CÉLULAS DE CICATRIZACIÓN.

Por

C.D. Paola Cristina Pérez Valenzuela

Como requisito parcial para obtener el Grado de

Maestría en Odontología Avanzada

Septiembre 2025

Maestría en Odontología Avanzada

**EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO CITOTÓXICO DE *Ficus carica* SOBRE
CÉLULAS DE CICATRIZACIÓN.**

Paola Cristina Pérez Valenzuela

Comité de examen de Tesis

Presidente

Secretario

Vocal

Maestría en Odontología Avanzada

**EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO CITOTÓXICO DE *Ficus carica* SOBRE
CÉLULAS DE CICATRIZACIÓN.**



TESISTA
Paola Cristina Pérez Valenzuela

Comité de Tesis



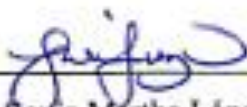
Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis
DIRECTOR



Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
CODIRECTOR



Dr. C. Adolfo Salas Domínguez
DIRECTOR EXTERNO



Dra. Sonia Martha López Villarreal
ASESOR METODOLÓGICO

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Nuevo León, así como a la Facultad de Odontología y la Facultad de Medicina por permitirme formar parte de esta Universidad y permitirme usar sus instalaciones para la realización de este proyecto.

Al posgrado de odontología avanzada por abrirme las puertas a la maestría y fomentar mi desarrollo y aprendizaje durante los últimos años.

Un agradecimiento especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por otorgarme una beca para la realización de mis estudios de maestría con el número de beca 1239167.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Un especial agradecimiento a mis padres José María Pérez Chávez y Josefina Valenzuela Domínguez, por todo el apoyo que me han proporcionado a lo largo de los años, por darme la oportunidad de estudiar una maestría y la educación brindada durante toda mi vida.

También quiero agradecer a mis hermanos Oscar, Oswaldo, Orlando y Uriel por ser mis compañeros de vida, y apoyarme en cada momento.

Así también quiero agradecer a mi prometido Cruz Eduardo Escutia Ramírez por ser mi apoyo emocional, por acompañarme y orillarme a siempre dar lo mejor de mí.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	iv
LISTA DE TABLAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUCCIÓN	13
2. JUSTIFICACIÓN	14
3.- HIPÓTESIS DE TRABAJO	15
4. OBJETIVOS	16
5. ANTECEDENTES	17
5.1 Medicina alternativa	17
5.1.1 Medicina alternativa en la odontología	18
5.2 <i>Ficus carica</i>	18
5.2.2 Propiedades de <i>Ficus carica</i>	20
5.2.1 Efectos citotóxicos de <i>Ficus</i>	20
5.8 Identificación taxonómica.....	20
5.3 Cicatrización	21
5.4 Regeneración	23
5.5 Queratinocitos	24
5.5.1 Células HaCaT	24
5.6 Fibroblastos.....	24
5.6.1 Células NIH-3T3	25
5.7 Perfil Fitoquímico	26
5.7.1 Estudios fitoquímicos de <i>Ficus carica</i>	26
5.7 MTT	27
6. MATERIAL Y MÉTODOS	28
6.1 Recolección de la muestra, caracterización taxonómica y obtención de extractos	28
6.1.1 Recolección de la muestra.....	28
6.1.2 Obtención del extracto.	29
6.2 Caracterización fitoquímica parcial	31

6.2.1 Instauraciones (Prueba del KMnO_4)	31
6.2.2 Grupo carbonilo (Prueba de la 2-4 dinitrofenilhidrazina).....	31
6.2.3 Oxidrilos fenólicos (taninos vegetales) (Prueba del FeCl_3)	31
6.2.4 Esteroides y terpenos (Prueba de Salkowski)	32
6.2.4 Carbohidratos.....	32
6.2.4.1 Prueba de Molish.....	32
6.2.4.2 Sesquiterpenlactonas (Prueba de Baljet).....	32
6.2.4.3 Flavonoides (Prueba del H_2SO_4).....	32
6.2.4.4 Alcaloides (Prueba de Dragendorff)	32
6.2.5 Saponinas	33
6.2.5.1 Prueba del NaHCO_3	33
6.3 Líneas Celulares.....	33
6.3.1 Línea celular HaCaT	33
6.3.2 Línea celular NIH-3T3	33
6.4 Preparación de las soluciones de trabajo.	34
6.5 Análisis morfológico.....	34
6.6 Plaqueo.....	36
6.7 Ensayo de citotoxicidad con MTT.....	36
6.8 Análisis estadístico	38
6.8.1 Estadística descriptiva.....	38
6.8.2 Estadística inferencial	38
7. RESULTADOS	39
7.1 Identificación taxonómica de la planta.	39
7.1.1 Caracterización taxonómica	39
7.2 Rendimiento de los extractos.....	40
7.3 Caracterización fitoquímica parcial cualitativa	40
7.4 Cambios morfológicos celulares.....	43
7.5 Análisis Estadístico.....	46
8. DISCUSIÓN.....	48
9. CONCLUSIONES.....	51
10. LITERATURA CITADA.....	52
APÉNDICES	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pagina
Figura 5.1 Ejemplar de <i>Ficus carica</i>	20
Figura 5.1 Proceso de cicatrización en sus diferentes fases	24
Figura 5.3 Células HaCaT.....	25
Figura 5.4 Células NIH-3T3.....	26
Figura 6.1 Diagrama general de metodología.....	29
Figura 6.2 Extracto de <i>Ficus carica</i> triturado.....	30
Figura 6.3 Extracto de <i>Ficus carica</i> con metanol.....	31
Figura 6.4 Procedimiento de tinción.....	36
Figura 6.5 Diagrama de procedimiento del MTT.....	38
Figura 7.1 Células tratadas por 24 h con 50 µg/mL de extractos de <i>Ficus carica</i>	44
Figura 7. 2 Células tratadas por 24 h con 300 µg/mL de extractos de <i>Ficus carica</i>	45
Figura 7.3 Células tratadas por 24 h con 700 µg/mL de extractos de <i>Ficus carica</i>	46
Figura 7.4 Análisis de citotoxicidad por ensayo de MTT en células tratadas por 24 h con diferentes concentraciones de extractos metanólicos de <i>Ficus carica</i>	47
Figura 7.5 Análisis de citotoxicidad por ensayo de MTT en células tratadas por 24 con diferentes concentraciones de extractos hexánicos de <i>Ficus carica</i>	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Pagina
Tabla 1. Tamizaje fitoquímico parcial De los extractos crudos de <i>Ficus carica</i>	41

NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS

g: gramos

Mg: miligramos

Ml: mililitros

µg: Microgramos

µl: Microlitros

MTT: (bromuro de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio)

DE: Desviación estándar

DMSO: Dimetilsulfóxido

OMS: Organización Mundial de la Salud

PBS: Tampón fosfato salino

RPM: Revoluciones por minuto

seg: segundos

TA: Temperatura ambiente

EM: Extracto Metanólico

EH: Extracto hexánico

h: horas

UV: Ultravioleta

KMnO₄: Permanganato de potasio

FeCl₃: Cloruro de hierro

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

HCl: Ácido clorhídrico

MnO₂: Dióxido de manganeso

NaOH: Hidróxido de sodio

Min: minutos

Bi(NO₃)₃: Nitrato de bismuto

CH₂O: Formaldehído

CH₃COOH: Ácido acético glacial

CO₂: Dióxido de carbono

TESISTA: Paola Cristina Pérez Valenzuela

DIRECTOR DE TESIS: Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis

CODIRECTOR DE TESIS: Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO CITOTÓXICO DE *Ficus carica* SOBRE
CÉLULAS DE CICATRIZACIÓN.**

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El uso de *Ficus carica*, comúnmente conocido como higuera, tiene un potencial bastante efectivo al ser evaluada experimentalmente para la modulación del ciclo celular, la inmunidad, la inflamación, el metabolismo y el estrés oxidativo. **OBJETIVO:** Analizar el efecto citotóxico *in vitro* de extractos de *Ficus carica* sobre fibroblastos y queratinocitos. **METODOLOGÍA:** Se realizaron extractos metanólico y hexánico mediante la técnica de maceración en frío a partir de hojas. Se realizó su caracterización mediante un tamizaje fitoquímico parcial para obtener resultados preliminares de los grupos de compuestos presentes en la planta. Posteriormente se realizó el análisis de citotoxicidad mediante el ensayo de MTT valorando diversas concentraciones y se analizó la viabilidad celular y cambios morfológicos en las células tratadas y se compararon los resultados con las células control. **RESULTADOS:** Se identificó la presencia de grupos fenólicos, alcaloides, flavonoides, carbohidratos, esteroides y terpenos para los extractos metanólico y hexánico, mientras que se identificó KMnO₄ únicamente en el extracto metanólico. Ambos extractos muestran cambios morfológicos celulares teniendo una forma más redondeada lo que sugiere una pérdida de adherencia, relacionada con el estrés y muerte celular, así como disminución de la confluencia en las líneas células celulares NIH-3T3 y HaCaT, a partir de los 300 µg /ml de concentración en comparación a los controles. **CONCLUSIONES:** Se puede estimar la posibilidad de utilizar a *Ficus carica* como componente para la medicina alternativa a partir de los procesos de cicatrización y regeneración de los queratinocitos y fibroblastos, manteniendo concentraciones menores de 300 µg/ml.

TESISTA: Paola Cristina Pérez Valenzuela
DIRECTOR DE TESIS: Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis
CODIRECTOR DE TESIS: María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO CITOTÓXICO DE *Ficus carica* SOBRE
CÉLULAS DE CICATRIZACIÓN.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The use of *Ficus carica*, commonly known as fig tree, has a quite effective potential when experimentally evaluated for the modulation of the cell cycle, immunity, inflammation, metabolism and oxidative stress. **OBJECTIVE:** To analyze the *in vitro* cytotoxic effect of *Ficus carica* extracts on fibroblasts and keratinocytes. **METHODOLOGY:** Methanolic and hexanic extracts were prepared using the cold maceration technique from leaves. Its characterization was carried out through a partial phytochemical screening to obtain preliminary results of the groups of compounds present in the plant. Subsequently, the cytotoxicity analysis was carried out using the MTT assay assessing various concentrations and the cell viability and morphological changes in the treated cells were analyzed and the results were compared with the control cells. **RESULTS:** The presence of phenolic groups, alkaloids, flavonoids, carbohydrates, steroids and terpenes was identified for the methanolic and hexanic extracts, while KMnO_4 was identified only in the methanolic extract. Likewise, both extracts show cellular morphological changes, such as a decrease in confluence in the NIH-3T3 and HaCaT cell lines, showing a decrease in cell confluence, as well as showing a more rounded shape suggesting a loss of adherence, related to stress and cell death, from 300 $\mu\text{g} / \text{ml}$ concentration compared to controls. **CONCLUSIONS:** The possibility of using *Ficus carica* as a component for alternative medicine can be estimated from the healing and regeneration processes of keratinocytes and fibroblasts, maintaining concentrations less than 300 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

1. INTRODUCCIÓN

El uso de la medicina alternativa se remonta a varios siglos en el pasado, donde se ha destacado el uso de múltiples plantas para aliviar diversos problemas de salud. Siendo que *Ficus carica* es una de las plantas más antiguas encontradas para el uso tradicional de la medicina alternativa, debido a sus diversas características y propiedades presentes, por lo que su uso se ha evaluado en diferentes enfermedades endocrinas e incluso dermatológicas (Hajam TA, et al 2022).

Así mismo se ha estimado que el uso de *Ficus carica*, comúnmente conocido como higuera, tiene un potencial bastante efectivo al ser evaluada experimentalmente para la modulación del ciclo celular, la inmunidad, la inflamación, el metabolismo y el estrés oxidativo (Saghazadeh A. et al., 2023). Por lo que, el uso medicinal de esta planta es una herramienta versátil y eficaz que promueve el uso de la medicina alternativa, ya que es una planta de fácil acceso que se encuentra presente en la mayoría de los hábitats comunes, así como en los hogares (Badgujar SB, et al., 2014).

Ficus carica demuestra una amplia gama de efectos ventajosos, que incluyen, entre otros, propiedades antioxidantes, antineurodegenerativas, antimicrobianas, antivirales, antiinflamatorias, antiartríticas, antiepilépticas, anticonvulsivas, antihiperlipidémicas, antiangiogénicas, antidiabéticas, anticancerígenas y antimutagénicas (Fazel MF, et al., 2024).

En base a lo anterior es que se estima el uso de *Ficus carica* como un coadyuvante eficaz para el tratamiento de diferentes heridas y la promoción de los procesos de cicatrización y regeneración, por lo que en esta investigación se estima la posibilidad de utilizar productos procedentes de *Ficus carica*, en pacientes con padecimientos sistémicos que dificulten estos procesos como lo es en pacientes diabéticos.

Si bien, el uso de *Ficus carica* como planta medicinal ha sido probado en múltiples investigaciones, demostrando eficacia y veracidad en el tratamiento de diversas enfermedades, no se ha evaluado su uso para favorecer los procesos de cicatrización y regeneración respectivamente, determinando en esta investigación si afecta células como lo son los fibroblastos y queratinocitos, las cuales son células importantes para la realización de estos procesos, así pues al formar parte del tejido conectivo son células ampliamente presentes en los tejidos orales.

2. JUSTIFICACIÓN

No existen estudios que evalúen el efecto citotóxico de *Ficus carica* sobre los fibroblastos y queratinocitos humanos, la cual es una planta que se ha usado como un componente de la medicina alternativa para tratar diversas enfermedades y se ha relacionado con efectos antiinflamatorios y antioxidantes.

Es a partir de esta aseveración que se torna importante determinar el posible uso de *Ficus carica* como un coadyuvante en el proceso de regeneración y cicatrización de las mucosas orales, determinado sus propiedades y especificando su citotoxicidad, para de esta manera generar propuestas de medicamentos alternativos y naturales que favorezcan los procesos en cuestión.

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los extractos de *Ficus carica* no poseen efecto citotóxico en los fibroblastos y queratinocitos humanos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto citotóxico *in vitro* de extractos de *Ficus carica* sobre fibroblastos (NIH-3T3) y queratinocitos (HaCaT).

4.2 Objetivos específicos

1. Analizar el perfil fitoquímico parcial de los extractos metanólico y hexánico de *Ficus carica*.
2. Determinar si los extractos metanólico y hexánico de *Ficus carica* muestran un efecto citotóxico sobre fibroblastos (NIH-3T3) y queratinocitos (HaCaT).
3. Identificar si los extractos metanólico y hexánico de *Ficus carica* inducen cambios morfológicos sobre fibroblastos (NIH-3T3) y queratinocitos (HaCaT).

5. ANTECEDENTES

5.1 Medicina alternativa

Desde el comienzo de la medicina, muchos estudios han utilizado las plantas como una herramienta efectiva, debido a sus propiedades medicinales, que se emplean para curar diversas enfermedades. De acuerdo con la secretaria de salud de México, la medicina alternativa consiste en un amplio conjunto de tratamientos cuyo propósito es restablecer el equilibrio perdido del individuo, tanto a nivel personal como en relación con las fuerzas sociales y naturales que lo rodean. El uso de diversos tratamientos herbales exhiben una notable eficacia en la cicatrización de lesiones, y esta efectividad se debe a la presencia de flavonoides, alcaloides, saponinas y compuestos fenólicos (Vitale S, et al., 2022).

En lo que respecta a la mucosa oral, debido a sus complejas secuencias de procesos biológicos de curación para restaurar la homeostasis, el uso de tratamientos alternativos toma relevancia, favoreciendo los procesos regenerativos de las mucosas (Toma AI, et al., 2021).

Se ha registrado con éxito el empleo de terapias vegetales para reducir la inflamación y el dolor de las heridas en varias zonas del planeta, lo que evidencia su eficacia para fomentar la cicatrización (Antonio Pereira I, et al., 2023). De la misma manera que el empleo de aceites esenciales y otros procedimientos que han colaborado con la curación de heridas provocadas por dolencias crónicas degenerativas, como es el caso del pie diabético. Estos aceites han evidenciado la reducción de todos los componentes fundamentales de la inflamación. (Wang JC, et al., 2023).

Así mismo, el uso de *Ficus carica* como planta medicinal se ha relacionado con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, anticolinesterásicas, antimicrobianas, hepatoprotectoras y renoprotectoras. Por lo que los estudios de toxicidad de *Ficus carica* han sugerido que las hojas exhiben toxicidad solo en dosis muy altas (Li Z., et al 2021).

5.1.1 Medicina alternativa en la odontología

El uso de plantas para el tratamiento de patologías bucodentales puede ser una alternativa excelente en comparación con los tratamientos farmacológicos, ya que son más accesibles económicamente, presentan menos efectos adversos y están disponibles. (Moghadam ET, et al., 2020). De igual manera, emplear extractos de vegetales en la vida diaria es una opción atrevida e interesante que utiliza compuestos sintéticos para regular las enfermedades bucales (Arumugam B, et al., 2020). Según los libros de medicina ancestral y los curanderos, México posee numerosas plantas que cuentan con características antibacterianas y antimicrobianas. Aunque no hay muchas investigaciones experimentales que evidencien los efectos antibacterianos, antimicrobianos y antiplaca de estas plantas mexicanas, todavía podrían servir como agentes anticariogénicos o como tratamiento alternativo para diferentes enfermedades periodontales. (Cruz Martínez C, et al., 2017). Por esta razón, se han promovido los fitoquímicos obtenidos de hierbas como alternativas viables para muchas enfermedades. Los dentistas de todo el planeta han optado por tratamientos naturales para la terapia dental, a causa de los efectos perjudiciales de ciertos agentes antibacterianos que se emplean en odontología. (Kumar M, et al 2021).

5.2 *Ficus carica*

El género *Ficus* es una especie tropical que se considera uno de los primeros árboles frutales que el ser humano cultivó. *Ficus pumila* L. es el nombre de la higuera rastrera, *Ficus benjamina* L. es el nombre de la higuera llorona y *Ficus carica* L. es el nombre de la higuera común. Estas especies tienen diversas aplicaciones debido a su riqueza en metabolitos secundarios y se emplean con frecuencia en la medicina tradicional para combatir diferentes dolencias. (Mawa S, et al., 2013).

Tiene forma de árbol o arbusto caducifolio o perennifolio y llega a medir de 5 a 10 m de altura, su copa es gruesa redondeada, sus hojas son alternas ovales, rugoso pubescentes con forma de corazón y palmeadas con 3 a 7 lóbulos, miden de 10 a 20 cm de longitud y casi igual de ancho, presenta un tronco con numerosas ramas gruesas de madera poco densa que se ramifican a poca altura del suelo, Es una especie caracterizada por dos morfos: los

cabrahigos, con flores estaminadas y flores pistiladas de estilo corto; y los higos comunes que producen sólo flores pistiladas de estilo largo, el fruto, es de color azulado o verde, negro o morado, mide de 3 a 10 cm de largo y tiene sabor dulce, mucilaginoso (Zhang T, et al., 2024).

Las diferentes partes de la higera se utilizan en diferentes empresas de alimentos como la panadería, la lechería y las bebidas. Así mismo, Los subproductos del higo se utilizan en forma de extracto para valorar la adición de diferentes productos alimenticios con el fin de mejorar el valor nutricional y potenciar la estabilidad. Los subproductos de higo son productos a base de aditivos que contienen ácidos grasos, polifenoles y antioxidantes con alto contenido de fitoquímicos (Rasool, IFU, et al., 2023).



Figura 5.1 Ejemplar de *Ficus carica*

5.2.1 Características de *Ficus carica*

El higo común se puede clasificar en categorías de cultivar según el color del fruto ya sea verde, amarillo y rojo color que es causado por el contenido de antocianinas presentes en la cáscara de la fruta. El contenido de estas en el higo contribuye a su calidad nutricional (Usai, et al. 2020). La poliploidía (multiplicación del genoma completo) se considera un fenómeno

importante en la evolución, adaptación y diversificación de las plantas, que se estima que ocurre en casi todos los linajes de especies de plantas. Por esa razón, este proceso es ampliamente utilizado en programas para mejorar diversas especies de plantas y de esta manera crear nuevos cultivos (Abdolinejad R, et al., 2021).

5.2.2 Propiedades de *Ficus carica*

Las antocianinas son compuestos secundarios encontrados en las plantas, las cuales han sido valoradas por sus efectos beneficiosos sobre la salud de los humanos al ser consumidas. Se realizaron diversos estudios in vitro para evaluar las propiedades antioxidantes de la cianidina-3-ramnoglucósido (C3R), uno de los principales tipos de antocianinas presentes en higos frescos, y se vinculó su capacidad protectora hacia las células de fibroblastos NIH-3T3 cultivadas. Este notable potencial antioxidante podría ser clave para los beneficios saludables asociados con la ingesta de higos frescos (Solomon A, et al 2010). Investigaciones previas han revelado que el extracto de las hojas de higo presenta un efecto antibacteriano contra *E. faecalis*, mostrando una concentración mínima bactericida del 50% y resulta no citotóxico para las células de fibroblastos. (Nirwana I, et al., 2018).

5.2.1 Efectos citotóxicos de *Ficus*

Estudios recientes indican que diversas partes de las especies de *Ficus*, incluyendo la fruta, el tallo, las hojas y el látex, poseen compuestos activos como los triterpenoides, los cuales presentan propiedades antioxidantes y citotóxicas. Un ejemplo es que los triterpenos extraídos de las raíces aéreas de *Ficus microcarpa* mostramos citotoxicidad contra las líneas celulares HONE-1, KB y HT29, con concentraciones aproximadas de 4,0-9,4 μM (Khodarahmi GA, et al 2011) (Saeed MA, et al 2002).

5.8 Identificación taxonómica

La familia de las Moraceae comprende un conjunto de plantas con flores que incluye muchas especies que se pueden consumir. Estas especies se distinguen por tener látex lechoso en sus

tejidos, flores de un solo sexo, óvulos en posición anátropa y frutos que pueden ser drupas o aquenios en grupos. Esta familia se organiza en cinco tribus, y entre ellas, Ficeae es la única que tiene un solo tipo y se encuentra ampliamente distribuida en regiones tropicales, con alrededor de 750 especies. Ficus representa uno de los 37 géneros de esta familia y en el continente americano se encuentra con más de 100 especies, clasificadas en dos subgéneros: Ficus subg. Urostigma. (Barolo MI, et al., 2014).

Dentro de los géneros de árboles, Eucalyptus (Myrtaceae) y Ficus (Moraceae) son notables por su rica variedad y la complejidad para clasificar sus especies. Respecto a Ficus, se calcula que hay entre 700 y 750 especies, distribuidas en zonas tropicales de África, América, Asia y Australia. (Ibarra-Manríquez Guillermo, et al., 2012).

Las plantas son árboles o arbustos de pequeñas dimensiones, con hojas grandes, alternas y simples, que presentan una profunda lobulación, de tres a siete lóbulos. La parte superior de las hojas tiene una textura áspera y presenta pelos, mientras que la parte inferior es lisa y también tiene vellosidad. La corteza es suave y de tonalidad gris. El fruto de F. carica es comúnmente conocido como higo. (Barolo MI, et al., 2014).

5.3 Cicatrización

El tejido de cicatriz, al ser el lugar principal de la fibrosis, sustituye la herida o el área donde ocurrió la necrosis celular. La formación de cicatrices puede ser desencadenada por distintos tipos de traumas, como operaciones quirúrgicas, así como por diversas patologías. Este procedimiento frecuentemente da lugar a la aparición de estenosis y otros problemas relacionados. La activación combinada de la regeneración, que toma en cuenta la función del sistema inmunológico, junto con la aplicación de productos enzimáticos con actividad proteolítica, podría ser un enfoque para disminuir la severidad de la fibrosis en los tejidos afectados. (Pechersky AV, et al 2016).

La rehabilitación de daños en la piel es un aspecto crucial para preservar su salud después de sufrir un traumatismo, ya sea por un incidente o una acción deliberada. El proceso de sanación de las heridas abarca tres fases que ocurren de forma sucesiva pero simultánea: la

fase de hemostasia e inflamación, la fase de proliferación y la fase de remodelación. (Wang PH, et al 2018).

Durante estas fases, el organismo atraviesa diversas transformaciones. En la fase inicial, las cascadas de coagulación son activadas por los elementos de coagulación en la piel dañada (sistema extrínseco), mientras que las plaquetas se activan y se agrupan al entrar en contacto con el colágeno expuesto (sistema intrínseco). Al mismo tiempo, los vasos sanguíneos que han sufrido daños experimentan una vasoconstricción que dura entre 5 y 10 minutos, provocada por las plaquetas, con el objetivo de reducir la pérdida de sangre y tapar la zona afectada con un coágulo que contiene citocinas y factores de crecimiento. (Reinke JM, et al 2012). Así, la inflamación inicial es caracterizada por la diapedesis de leucocitos, alcanzando su nivel máximo entre 24 y 48 horas después del daño en la piel. Los monocitos se convierten en macrófagos activados (en el tejido) y en restos de tejido fagocitado, mientras liberan citocinas y quimiocinas que atraen y permiten la acción de otras células del sistema inmunitario, principalmente células T auxiliares. (Knoedler S, et al., 2023). El paso de la fase inflamatoria a la fase proliferativa en la reparación de las heridas es un campo de estudio en desarrollo. En primer lugar, las células cutáneas reciben señales de la fase aguda, que son identificadas por receptores tipo Toll, los cuales dan inicio y sostienen la inflamación (Sorg H, et al., 2017). Durante la fase de proliferación en la cicatrización reparadora, las células que ya están en el tejido se mueven y se multiplican para sustituir el tejido afectado y cerrar la herida.

Los macrófagos secretan citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento, entre los que se encuentran el factor de crecimiento endotelial vascular y el factor de crecimiento transformante beta, con el propósito de atraer fibroblastos y queratinocitos hacia la zona afectada. Los fibroblastos en la dermis se multiplican y generan una matriz extracelular que incluye colágeno de tipos I y III, fibronectina, ácido hialurónico y proteoglicanos. En la fase de remodelación, el cuerpo trabaja para restaurar la estructura normal del tejido. El tejido de granulación sufre un proceso de remodelación que da lugar a tejido cicatricial que tiene una menor cantidad de células y vasos sanguíneos, acompañado de un incremento progresivo en la cantidad de fibras de colágeno. Esta fase se distingue por la maduración de sus

componentes, con transformaciones significativas en la matriz extracelular y la resolución del proceso inflamatorio. (Gonzalez AC, et al 2016).

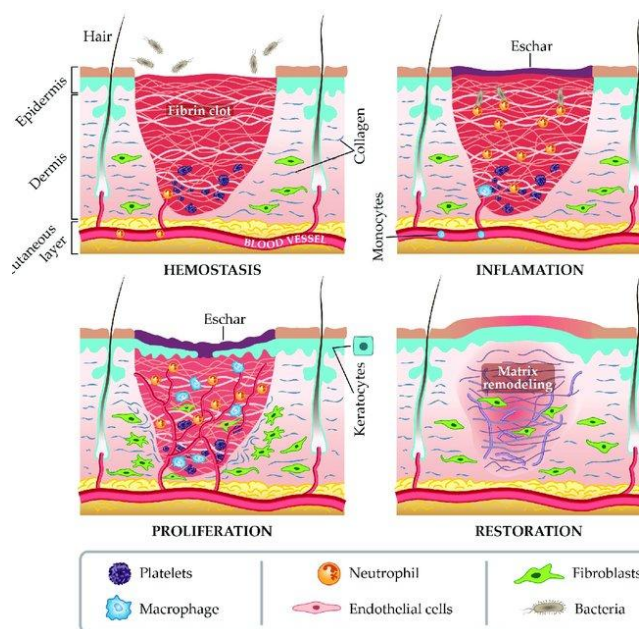


Figura 5.2 proceso de cicatrización en sus diferentes fases hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación (Seyyed M. et al., 2021)

La piel ha desarrollado mecanismos eficaces y rápidos para cerrar las brechas en su barrera, un proceso denominado colectivamente como la respuesta de cicatrización de heridas. La reparación de heridas se divide tradicionalmente en cuatro fases principales: hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación dérmica, que culminan en la restauración de la estructura y función del tejido tras el daño. (Wilkinson HN, et al., 2020).

5.4 Regeneración

En los últimos diez años, se ha evidenciado cómo la respuesta del sistema inmunológico regula la curación, restauración y renovación de los tejidos. Las células del sistema inmune desempeñan roles fundamentales en las reacciones inmunitarias, apoyando procesos que favorecen la restauración de los tejidos. La modulación y regulación de las respuestas de estas células inmunes, en particular de los macrófagos, se está convirtiendo en una estrategia nueva para optimizar la regeneración de los tejidos. (Zheng K, et al., 2021). Las estrategias

actuales de regeneración se enfocan en los márgenes de la lesión, incentivando la capacidad de auto-regeneración de los tejidos en la periodoncia. (Nuñez J, et al., 2019).

5.5 Queratinocitos

Siendo la capa más exterior del cuerpo, la dermis está expuesta a agresiones cotidianas del entorno. La curación adecuada de las lesiones es crucial para la vida, y esto se consigue mediante la coordinación precisa de diversas actividades celulares y moleculares a lo largo del tiempo. La reparación de las heridas incluye varias etapas distintas, aunque en parte se solapan, que son: hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación (Piipponen M et al., 2020). Los queratinocitos constituyen el principal elemento celular de la epidermis y son responsables de restaurar esta capa tras una lesión a través de un mecanismo llamado epitelización. (Pastar I, Stojadinovic O et al 2014).

5.5.1 Células HaCaT

Las células HaCaT son una línea celular de queratinocitos que se immortalizó espontáneamente, resultado de mutaciones bialélicas específicas inducidas por la radiación ultravioleta en el gen supresor de tumores p53, seguidas por la pérdida de genes relacionados con la senescencia (Blanchard G, et al., 2022). En condiciones normales de cultivo, estas células presentan un fenotipo que va de parcialmente a totalmente diferenciado, debido a la alta concentración de calcio presente tanto en el medio estándar como en el suero fetal bovino (Wilson VG et al., 2014).



Figura 5.3 Células HaCaT

5.6 Fibroblastos

La dermis alberga diferentes clases de células fibroblásticas que se originan de capas embrionarias diversas. Estos linajes fibroblásticos exhiben características genéticas y funciones particulares en el organismo. La investigación sobre la variedad de estas células está ganando importancia en campos como la biología de la piel, la curación de heridas y la

medicina regenerativa (Jiang D, et al., 2021). La activación de fibroblastos es un paso fundamental en la reparación adecuada de tejidos tras un daño, así como en los procesos anormales que llevan a la fibrosis en los órganos. Para muchos científicos, los fibroblastos son células alargadas y poco interesantes que se encuentran dentro de la matriz de colágeno en los tejidos conectivos, y con frecuencia se utilizan en experimentos mecánicos en cultivos de células adherentes. Durante más de cien años, los fibroblastos no recibieron una clasificación detallada debido a la falta de marcadores específicos y se consideraban simplemente un subproducto al identificar otras células en una muestra de tejido. (Schuster R, et al 2021).

En los seres humanos, las lesiones cutáneas típicamente sanan a través de un proceso de cicatrización reparativa en lugar de una regeneración completa. Como consecuencia, las lesiones dejan marcas y no incluyen unidades pilosebáceas ni otros apéndices. Los fibroblastos dérmicos se originan de dos linajes celulares distintos, los cuales poseen marcadores y, más notablemente, diferentes capacidades funcionales. La cicatrización de la piel en humanos está predominantemente vinculada a fibroblastos que provienen de la dermis reticular, no de la dermis papilar. (Woodley DT, et al 2017).

5.6.1 Células NIH-3T3

La línea de células de fibroblastos embrionarios de ratón NIH-3T3 se utiliza con frecuencia en la investigación biológica, particularmente en el análisis de la regulación del ciclo celular y los cilios primarios. Los fibroblastos son las células más importantes dentro del tejido conectivo, dado que se encargan de crear elementos de la matriz extracelular y de establecer la estructura del tejido. (Rahimi AM, et al 2022).

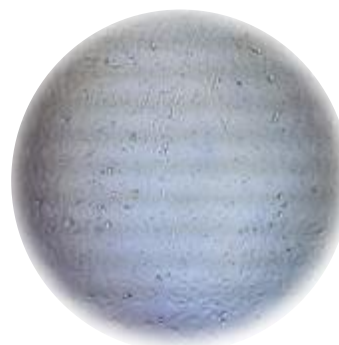


Figura 5.4 Células NIH-3T3

Los fibroblastos tienen un papel crucial en la cicatrización de heridas. Este proceso consta de tres etapas: inflamatoria, proliferativa y regenerativa, durante las cuales los fibroblastos se activan y se convierten en miofibroblastos (Cantante AJ, et al., 1999).

5.7 Perfil Fitoquímico

Las frutas, reconocidas por ser ricas en vitaminas, minerales y fibras, son elementos cruciales en nuestra alimentación desde el enfoque nutricional. El resguardo que ofrecen ha sido vinculado a la presencia de fitoquímicos con capacidades antioxidantes. (Solis Ramírez, et al., 2017). El estudio fitoquímico se refiere al análisis químico de las plantas, una rama que está creciendo rápidamente con diversos propósitos, como identificar las categorías de sustancias presentes y llevar a cabo el aislamiento y evaluación cualitativa y/o cuantitativa de compuestos con actividad biológica, así como su examen estructural (Mosić M, et al., 2020). El propósito de una investigación fitoquímica inicial es determinar si hay o no presencia de los principales grupos de metabolitos en una especie de planta, tales como: alcaloides, antraquinonas y naftoquinonas, esteroides y triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, lactonas terpénicas y compuestos cardiotónicos. Cada uno de estos grupos de sustancias se relaciona con funciones biológicas particulares. (Carvajal Rojas Lyndon, et al., 2009).

5.7.1 Estudios fitoquímicos de *Ficus carica*

Los estudios fitoquímicos realizados en *F. carica* han mostrado la presencia de diversos compuestos bioactivos, como compuestos fenólicos, fitoesteroles, ácidos orgánicos, antocianinas, triterpenoides, cumarinas y compuestos volátiles, incluyendo hidrocarburos, alcoholes alifáticos y otras clases de metabolitos secundarios en diferentes partes de la planta. La mayoría de las especies de *F. carica* contienen compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y compuestos volátiles (Oliveira AP, et al., 2009). Se han aislado del extracto acuoso de las hojas de *F. carica* ácidos fenólicos como el ácido 3-O- y 5-O-cafeoilquínico, ácido ferúlico, quercetina-3-O-glucósido, quercetina-3-O-rutinósido, psoraleno, bergapteno, y ácidos orgánicos como el oxálico, cítrico, málico, quínico, shikímico y ácido fumárico (Mawa S, et al 2013)

5.7 MTT

El ensayo de tetrazolio MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) es una herramienta popular para estimar la actividad metabólica de las células vivas. La prueba se basa en la reducción enzimática de la sal de tetrazolio de color claro a su formazán de color azul púrpura intenso, que puede cuantificarse espectrofotométricamente. En condiciones adecuadamente optimizadas, el valor de absorbancia obtenido es directamente proporcional al número de células vivas. El reactivo MTT puede atravesar la membrana celular, así como la membrana interna mitocondrial de células viables, presumiblemente debido a su carga positiva, así como a su estructura lipófila y las células metabólicamente activas lo reducen a formazán. La naturaleza cromogénica de esta reacción química redox proporciona una medición colorimétrica de la producción intracelular de formazán (Ghasemi M, et al 2021).

Originalmente, el ensayo MTT se ideó para su uso en líneas de células eucariotas y luego se aplicó a bacterias y hongos (Grela E, et al., 2018).

En estos casos, la coenzima nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD(P)H) y las deshidrogenasas de células metabólicamente activas reducen las sales de tetrazolio a productos de formazán lipófilos y fuertemente coloreados, que luego se cuantifican mediante absorbancia (MTT) o fluorescencia (CTC). Más recientemente, ciertos tetrazolios sulfonados, que dan lugar a formazanos solubles en agua, también han resultado útiles para ensayos de citotoxicidad (Stockert JC, et al., 2018).

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del estudio se utilizó las hojas de *Ficus carica*, para realizar extractos metanólico y hexánico realizados por medio de la técnica de maceración en frío, los cuales fueron caracterizados a partir de una serie de pruebas fitoquímicas para determinar los componentes de los extractos de manera individual, posteriormente se realizó la solución madre en base a los extractos, la cual fue colocada en una placa de 96 pozos en diluciones de 0, 50, 100, 300, 500 y 700 µl. La placa fue incubada por 24h a 37°C y fue sometida a un estudio de MTT para determinar la citotoxicidad.

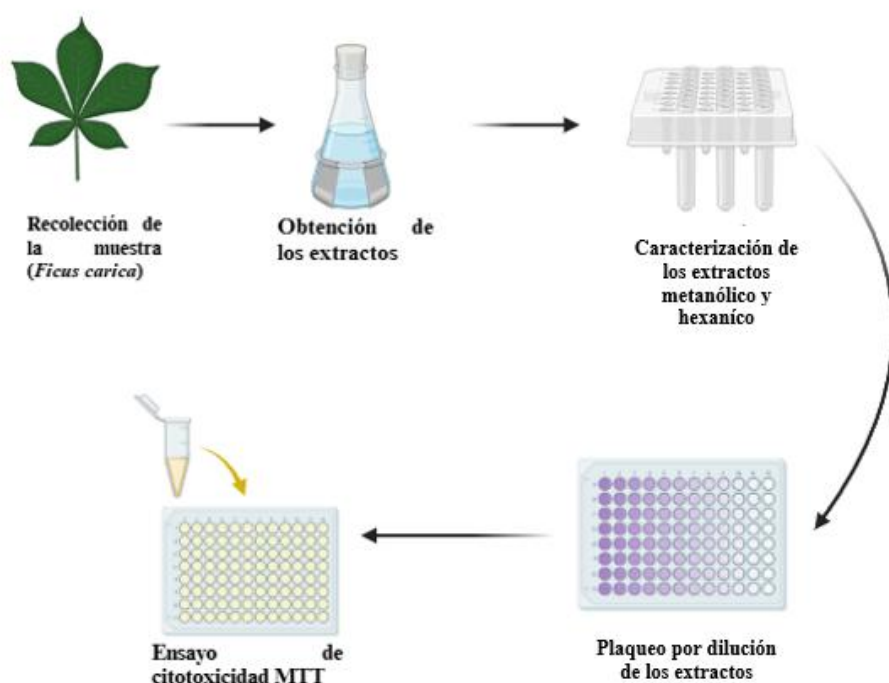


Figura 6.1 diagrama de metodología general.

6.1 Recolección de la muestra, caracterización taxonómica y obtención de extractos

6.1.1 Recolección de la muestra

Las hojas de *Ficus carica* fueron recolectadas en los meses de diciembre- enero del año 2022 y 2023 respectivamente, en la zona de fundo legal el saltito en la ciudad de Durango del municipio de Durango (24°00'39.9"N 104°41'49.7"W).

Se utilizaron tres kilogramos de hojas secas incubadas a temperatura ambiente de *Ficus carica* con fruto de color morado, tomadas directamente de la higuera.

6.1.2 Obtención del extracto.

Para la producción de los extractos se realizó una técnica de maceración en frío siguiendo el protocolo descrito por del Refugio Lara et al., 2023. Así pues, El material vegetal fue recolectado y secado por tres días al sol. Posteriormente fue almacenado a temperatura ambiente en un espacio completamente seco.



Figura 6.2 **A.** hoja de *Ficus carica* recolectada para triturar **B.** Muestra de la planta de *Ficus carica* triturado y secado a temperatura ambiente.

Una vez tomada, la planta fue molida de manera manual, separando el tallo de la hoja (Figura 6.2). Hasta la obtención de 87g de muestra, los cuales fueron pesados en una báscula. Posteriormente la planta se depositó en dos matraces Erlenmeyer con 45g y 42g respectivamente, que fueron colocados en una revolvedora para realizar una técnica de maceración en frío, donde se colocaron los matraces con la muestra, para posteriormente añadir el solvente, en este caso metanol absoluto siendo colocados 500 ml en el matraz que contenía los 45g de muestra y 480 ml en el matraz que contenía los 42g de muestra



Figura 6.3. A. Extracto de *Ficus carica* con metanol.

La muestra con el solvente se mantuvo en constante vibración durante tres días, hasta la obtención de una mayor concentración del extracto. Una vez pasados los tres días, se filtraron los extractos, con ayuda de un embudo y papel filtro, donde se pasó únicamente el extracto a un frasco de vidrio tapado y se procedió a la evaporación del solvente, pasado el tiempo correspondiente, el extracto fue colocado en un frasco de vidrio, se obtuvo el rendimiento y fue almacenado y mantenido en refrigeración a 4°C para su evaluación en los posteriores ensayos.

Para obtención del segundo extracto se siguió un procedimiento similar al anterior, donde la hoja fue de igual manera triturada de manera manual, sin embargo, esta vez se colocaron 50g en cada uno de los matraces de la planta. Posteriormente se agregó hexáno a cada uno de los matraces, siendo que esta vez se agregaron 465 ml y 400 ml respectivamente.

Una vez hecho lo anterior, los matraces se colocaron en una revolvedora por tres días. Donde al igual que el anterior, este extracto fue filtrado y se colocó en una incubadora a 37°C por una semana. Una vez evaporado el disolvente en su totalidad, se determinó el rendimiento de los extractos con la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%p/p)} = \frac{PE}{PI} \times 100$$

Donde

PE: Peso 000del extracto obtenido

PI: Peso inicial del material vegetal

Posteriormente fue trasladado a un frasco de vidrio pequeño y fue tapado con aluminio en su totalidad, para evitar el paso de la luz solar al interior del extracto. A su vez este fue almacenado en refrigeración a una temperatura constante de 4°C.

6.2 Caracterización fitoquímica parcial

El tamizaje parcial, determina los componentes de los principales grupos funcionales presentes en los diferentes extractos, ya sea grupos polares o no polares. Para de esta manera, poder establecer las diferentes cualidades con las que cuentan cada uno de los extractos.

Así pues, se realizaron una serie de pruebas basadas en los protocolos establecidos en el artículo de Guillén-Meléndez GA et al., 2021. para la identificación de estos compuestos, utilizando un grupo control, que se encuentra libre de los extractos, ejecutando varias pruebas colorimétricas y de precipitación, donde dependiendo de la intensidad del resultado se clasificaron en: (-) ausente, (+) presente, (++) abundante, (+++) muy abundante.

6.2.1 Instauraciones (Prueba del KMnO_4)

Se disolvieron de 1-2 mg de los extractos en 2 ml de metanol y acetona respectivamente y se le agregaron gota a gota una solución de KMnO_4 al 2% en agua. Se agitaron. La prueba se consideró positiva al observarse decoloración o formación de precipitado de color café, resultado de la formación de KMnO_2 .

6.2.2 Grupo carbonilo (Prueba de la 2-4 dinitrofenilhidrazina)

Una muestra de 5 mg del extracto se disolvió en 2 ml de metanol y acetona respectivamente y se le añadió 1 ml de una solución saturada de 2-4 dinitrofenilhidracina en HCl 6N. La formación de un precipitado de color amarillo o naranja indicó la presencia del grupo carbonilo.

6.2.3 Oxidrilos fenólicos (taninos vegetales) (Prueba del FeCl_3)

Se disolvieron 1-2 mg del extracto en 1 ml de metanol y acetona respectivamente y después se agregaron gotas de FeCl_3 al 2.5%. La aparición de un precipitado rojo, azul-violeta o verde se consideró positivo.

6.2.4 Esteroides y terpenos (Prueba de Salkowski)

Se disolvió 1-2 mg de cada extracto en 1 ml de cloroformo y posteriormente se le agregó 1ml de H_2SO_4 conc. Se consideró un resultado positivo para esteroides y metilesteroides, al formarse un anillo rojo-marrón en la interfase.

6.2.4 Carbohidratos

6.2.4.1 Prueba de Molish

A 1-2 mg del extracto, se le agregó gota a gota el reactivo de Molish (alfa-naftol al 1 % en metanol), luego, 1 ml de H_2SO_4 conc. por las paredes del tubo. La prueba se consideró positiva cuando se formó un anillo coloreado de color púrpura en la interfase.

6.2.4.2 Sesquiterpenlactonas (Prueba de Baljet)

A 2-3 mg del extracto disueltos en metanol y acetona respectivamente, se le agregaron 3-4 gotas de la solución mezcla, siendo positiva si se tornó de color naranja a roja oscura.

6.2.4.3 Flavonoides (Prueba del H_2SO_4)

Una pequeña cantidad del extracto se disolvió en 2 mL de H_2SO_4 y un resultado positivo indicó coloración amarilla para flavonoides, naranja-guinda para flavonas, rojo-azuloso para chalconas y rojo-púrpura para quinonas.

6.2.4.4 Alcaloides (Prueba de Dragendorff)

Se usó la modificación de Munier y Macheboeuf (Kikugawa, 1967) para la determinación de alcaloides. Para ello se prepararon dos soluciones, la solución A con 0.85 g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$, los cuales se mezclaron con 10 ml de CH_3COOH y 40 ml de agua y Solución B con 8 g de KI

disuelto en 20 ml de agua. El reactivo se preparó mezclando 5 ml de “A”, 4 ml de “B” y 100 ml de agua, la prueba se consideró positiva en caso de presentar coloraciones rojo-naranja, persistentes por 24 h.

6.2.5 Saponinas

6.2.5.1 Prueba del NaHCO₃

Se disolvieron de 1-2 mg del extracto en metanol y acetona respectivamente, y se le agregaron de 2-3 gotas de H₂SO₄ concentrado. Se agitó ligeramente, y se agregaron 2-3 gotas de la solución de NaHCO₃. La aparición de burbujas y su permanencia por más de 1 min indicaron la presencia de saponinas.

6.3 Líneas Celulares

6.3.1 Línea celular HaCaT

Células inmortalizadas espontáneamente, derivadas de epidermis humana (*Homo sapiens*) a partir de un paciente masculino de 62 años. Son células adherentes y de morfología epitelial. Las células se incubaron en medio Advanced DMEM, 1x suplementado con 4% v/v de suero fetal bovino inactivado, 1% v/v de penicilina/estreptomicina y 1% de L-glutamina.

6.3.2 Línea celular NIH-3T3

Fibroblastos derivados de embrión de ratón (*Mus musculus*) NIH/Swiss (ATCC: CRL-1658). Son células adherentes, de morfología tipo fibroblasto. Es una línea celular multiclonal y presenta aberraciones clonales distinguibles. Las células se incubaron en medio DMEM 1X suplementado con 10% v/v de suero de ternero recién nacido (NBCS) inactivado, 1% de penicilina/estreptomicina y 1% de L-glutamina.

6.4 Preparación de las soluciones de trabajo.

A partir de los extractos crudos, se prepararon las soluciones madre de 5 mg/mL, disolviendo en tubos Eppendorff de 1.5 ml dicha cantidad de extracto en 50 µl de DMSO (dimetilsulfóxido) 100% y se añadieron 950 µl de medio de cultivo con el fin de que la concentración de DMSO fuera de 5%. Posteriormente a partir de la solución madre se prepararon las diluciones a concentraciones de 50, 100, 300, 500 y 700 µg/mL.

6.5 Análisis morfológico

Para realizar la tinción de las células dentro de la placa se utilizó el azul tripano como componente, realizando la tinción en una relación 1:1. Esta tinción va a determinar el número de células vivas del cultivo, siendo que las que las teñidas de color azul demuestran las células muertas y las blancas las células vivas.

El protocolo a seguir para realizar la tinción, inicia retirando el medio donde las células se encontraban incubadas, evitando despegar las células, en segundo lugar y ya habiendo retirado el medio, se procedió a lavar la monocapa con PBS (1ml), el cual se colocó directamente en el centro de la caja y permaneció en el sitio un lapso de 30 segundos aproximadamente y se retiró por completo. Una vez pasado el lapso de tiempo, se coloca 1ml de tripsina, y se deja actuar por 1- 2 minutos aproximadamente, dejando reposar en la incubadora.

Para determinar que las células están listas se deben mirar a contraluz, y de esta manera asegurar que se encuentran despegadas. posteriormente se colocaron 3ml de medio para inactivar la tripsina y se coloca la caja en posición vertical, esto para evitar que las células se vuelvan a pegar.

Una vez realizada la tinción se observaron a microscopio y se realizó un conteo por cuadrantes de las células vivas, determinando a su vez la confluencia de las células. Para esto, en un tubo Eppendorf de 600 µl se colocaron 10 µl de azul tripano y 10 µl de las células. Y

de esta manera se agregan 10µl de la suspensión a una cámara de Neubauer entre un portaobjetos, para poder observarlas al microscopio.

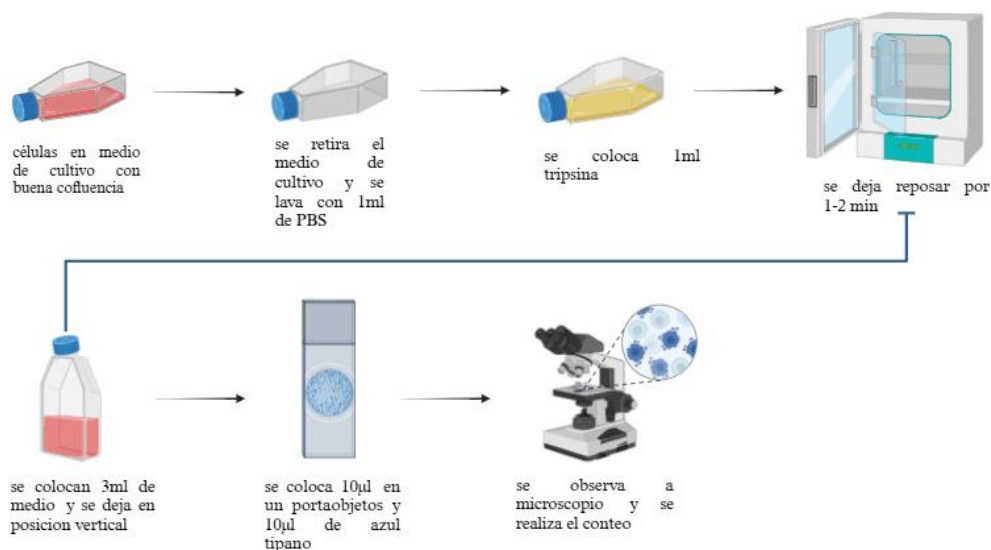


Figura 6.4. Procedimiento de tinción con azul tripano en proporción 1:1 para conteo celular

Se realizaron los cálculos para determinar el número de células promedio presentes en cada pocillo, en base a lo siguiente:

$$(\bar{x} \cdot 2) \cdot 10,000$$

Donde:

$\bar{x}$: Promedio

10,000: Factor de dilución

Una vez obtenido lo anterior se determina el número de células presentes en 1ml, por lo que para obtener el número total de células es necesario realizar el cálculo multiplicándolo x4, ya que se están colocando 3ml de medio extra.

6.6 Plaqueo

Se realizó en placas de 97 pocillos, posterior al cultivo celular, con el uso de tripsina en dilución.

Previo a la colocación de las células en la placa se determinó la cantidad de células a colocar en cada pocillo y se evaluó la cantidad de medio necesaria para la dilución, tomando en cuenta que se utilizaron 100 µl en cada pocillo, en base a una regla de 3 simple.

Una vez que se realizaron los cálculos se marcó la placa con las concentraciones, colocando en primer lugar el control, donde únicamente se encontraran las células sin la solución madre, posterior a esto se colocó, el resto de la solución en los pocillos correspondientes, tomando en cuenta la dilución indicada que en este caso fueron 0, 50, 100, 300, 500 y 700 µl. Se utilizaron estas medidas para determinar el margen del efecto. Así mismo cada 3 diluciones se colocó un control. Siendo que, además cada una de estas pruebas se realizaron por triplicado

Una vez realizado el plaqueo, las células se observaron a microscopio y se incubaron con CO₂ por 24h a 37°C, para dejar actuar la solución y permitir la adhesión de las células.

6.7 Ensayo de citotoxicidad con MTT

La función mitocondrial puede evaluarse en función de la actividad de las reductasas que se encuentran en el orgánulo, relacionándose directamente con la viabilidad celular. El ensayo de MTT [bromuro de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio] se puede utilizar para medir dicha actividad. Este compuesto es una sal de tetrazolio de color amarillo la cual se reduce a formazán, por la acción de las enzimas mitocondriales en especial el succinato deshidrogenasa, dando como resultado un producto de color morado-azul el cual se puede evaluar por espectrofotometría (van Tonder, 2015). Para este ensayo, se incubaron por 24 h, 7500 células por pozo (n=5) en una placa de 96 pozos para permitir su adhesión. Posteriormente, se aplicaron los tratamientos de cada extracto a concentraciones de 50, 100, 300, 500 y 700 µg/mL, diluidos en 100 µl de medio de cultivo. Como control negativo se

utilizó medio de cultivo celular como vehículo. Se analizaron los resultados a las 24 h. Después, 2 h antes de terminar los tiempos de incubación correspondientes, se utilizó un microscopio invertido Southern Precision Instrument para tomar 6 fotomicrografías representativas, una por cada concentración, a un aumento total de 4X, para observar el efecto de los extractos en la morfología celular. Posteriormente se añadieron 15 µl de MTT (3 mg/ml) a cada pozo y se incubaron las células por 2 h a 37°C, luego se retiró el medio y se añadió el reactivo revelador de MTT (HCl 4 mM, 0.040% NP40 en isopropanol), se agitó la placa a 125 RPM durante 10 minutos y se realizó un análisis de absorbancia a 590 nm con filtro de referencia de 620 nm, en un lector de microplacas iMark™.

El valor de absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de células metabólicamente activas, que es una medida indirecta de la viabilidad celular.

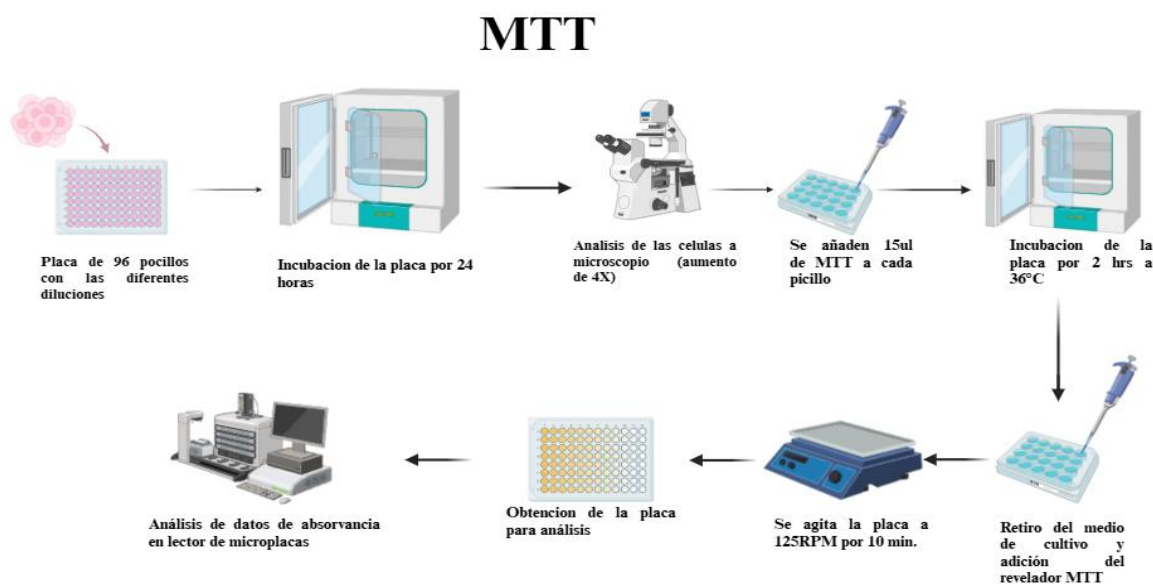


Figura 6.6 Diagrama de flujo de procedimiento de MTT

6.8 Análisis estadístico

6.8.1 Estadística descriptiva

Las variables cuantitativas se resumieron mediante el cálculo de la media y como medida de dispersión, la desviación estándar (DE).

6.8.2 Estadística inferencial

Se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov para evaluar la distribución de los datos, teniendo que todas las variables tuvieron una distribución normal. Posteriormente se realizó una prueba ANOVA para evaluar la presencia de diferencias entre los grupos.

7. RESULTADOS

7.1 Identificación taxonómica de la planta.

La planta fue identificada como *Ficus carica* por la Dra. María Magdalena Salinas Rodríguez, en el herbario de la facultad de ciencias biológicas (FCB) de la Universidad Autónoma de Nuevo León y se le dio el número de voucher 25602 (anexo 1).

7.1.1 Caracterización taxonómica

Una muestra de la planta fue llevada para su identificación a la facultad de ciencias biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, la cual fue almacenada dando la siguiente caracterización taxonómica:

- Plantas Reino Plantae
- Plantas Vasculares Filo Tracheophyta
 - Plantas con Flores Subfilo Angiospermae
 - Magnolias, Margaritas Y Parientes
(Dicotiledóneas) clase Magnoliopsida
 - Rosas, Olmos, Moreras, Ortigas Y Afines Orden Rosales
 - Moreras, Higueras, Árboles de Pan Y
Parientes Familia Moraceae
 - Tribu Ficeae
 - Higueras, Amates Y
Parientes Género Ficus
 - Subgénero Ficus
 - Higuera *Ficus carica*

7.2 Rendimiento de los extractos

Los rendimientos de los extractos metanólico y hexánico obtenidos mediante el método de maceración en frío fueron de 7.2% y 3.6% respectivamente, se obtuvieron 2 extractos de apariencia pastosa y de coloración verde-amarillenta, con una coloración verdosa más abundante en el EM que en el EH, el cual se caracterizó por su coloración amarilla. Así mismo, se tenía un aroma fuerte en ambos extractos.

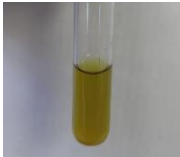
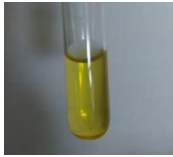
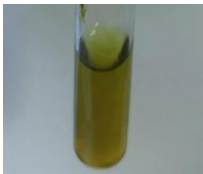
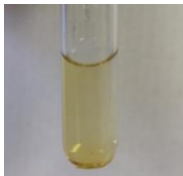
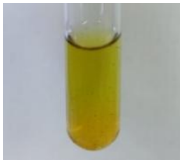
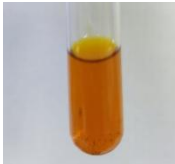
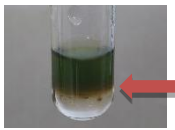
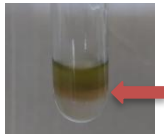
7.3 Caracterización fitoquímica parcial cualitativa

Los resultados que se obtuvieron fueron a partir de una serie de pruebas aplicadas a los diferentes extractos, tomando como referencia un control negativo de las mismas, donde se incluía una muestra del solvente utilizado en cada prueba con gotas del reactivo utilizado, sin la inclusión de ninguno de los extractos. Para posteriormente, realizar un análisis en base a pruebas colorimétricas a cada uno de los extractos y de esta manera determinar la presencia de cada uno de los componentes.

En lo que respecta a los extractos propios se demostró una diferencia en los componentes de cada uno, variando en comparación, donde se muestra presencia de KMnO_4 en el extracto metanólico representada por un color café muy marcado por lo que se consideró positiva, sin embargo, la precipitación del extracto fue mínima. mientras que el extracto hexánico, no presentó un resultado positivo.

En la representación del grupo carbonilo el cual se analizó a raíz de una prueba de 2-4 dinitrofenilhidrazina, se demostró la ausencia de este compuesto, en ambos extractos. Mientras, que se demostró la presencia de compuestos fenólicos, a partir de una prueba de compuestos férricos, donde el extracto hexánico fue más abundante de estos compuestos.

Para determinar la presencia de sesquiterpenlactonas se realizó una prueba de Baljet dando resultado negativo en ambos extractos. Mientras que se demuestra la presencia de alcaloides, los cuales fueron identificados por la prueba de Dragendorff, siendo muy abundantes en ambos extractos representados por una coloración naranja.

Metabolito/ prueba	Control negativo	Extracto metanólico	Extracto hexánico
Insaturaciones/ KMnO_4		 (+)	 (-)
Grupo carbonilo/ prueba de la 2-4 dinitrofenilhidrazina		 (-)	 (-)
Oxidrilos fenólicos/ cloruro ferrico		 (+)	 (++)
Sesquiterpenlactonas/ baljet		 (-)	 (-)
Alcaloides/ dragendorff		 (+++)	 (+++)
Esteroides y treptenos/ prueba de salkowski		 (++)	 (+)

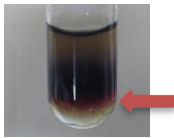
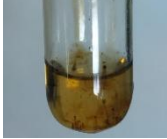
Carbohidratos/ molisch		 (+)	 (+)
Flavonoides/ acido sulfurico		 (+++)	 (+++)
Saponinas/ prueba de bicarbonato		 (-)	 (-)

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico parcial de los extractos crudos de *Ficus carica*. La primera columna (izquierda a derecha) indica el nombre del metabolito secundario y de la prueba para realizar la detección. La siguiente columna muestra los tubos con el control negativo, seguido de los resultados obtenidos en los tres extractos. EM = Extracto metanólico, EH = Extracto Hexánico. (-) = Ausente, (+) = Presente, (++) = Abundante, (+++) = Muy abundante.

La presencia de esteroides y treptenos se realizó por la Prueba de Salkowski, siendo más abundantes en el extracto metanólico, viéndose positivo por la presencia de un halo color café intermedio. Además, se identificó la presencia de carbohidratos, a partir de la prueba de Molisch mostrando un halo en la interfase.

Así mismo, la presencia de flavonoides fue evidente en ambos extractos, realizando una prueba de ácido sulfúrico obteniendo una coloración rojiza representando a las quinonas. Mientras de las saponinas estuvieron ausentes en ambos extractos.

Todos los procedimientos se realizarán por triplicado para asegurar confiabilidad y reproducibilidad de los mismos.

7.4 Cambios morfológicos celulares

Con el objetivo de determinar la presencia de un efecto citotóxico de los extractos en los fibroblastos y queratinocitos, se observó a microscopía óptica después de aplicar los tratamientos a concentraciones de 0, 50, 100, 300, 500 y 700 $\mu\text{g/ml}$ durante 24 h.

La figura 7.1 muestra una microfotografía con microscopio de campo claro de los cultivos celulares de HaCaT y NIH-3T3, expuestas a la concentración más baja de 50 $\mu\text{g/ml}$ en un lapso de tiempo de 24 h.

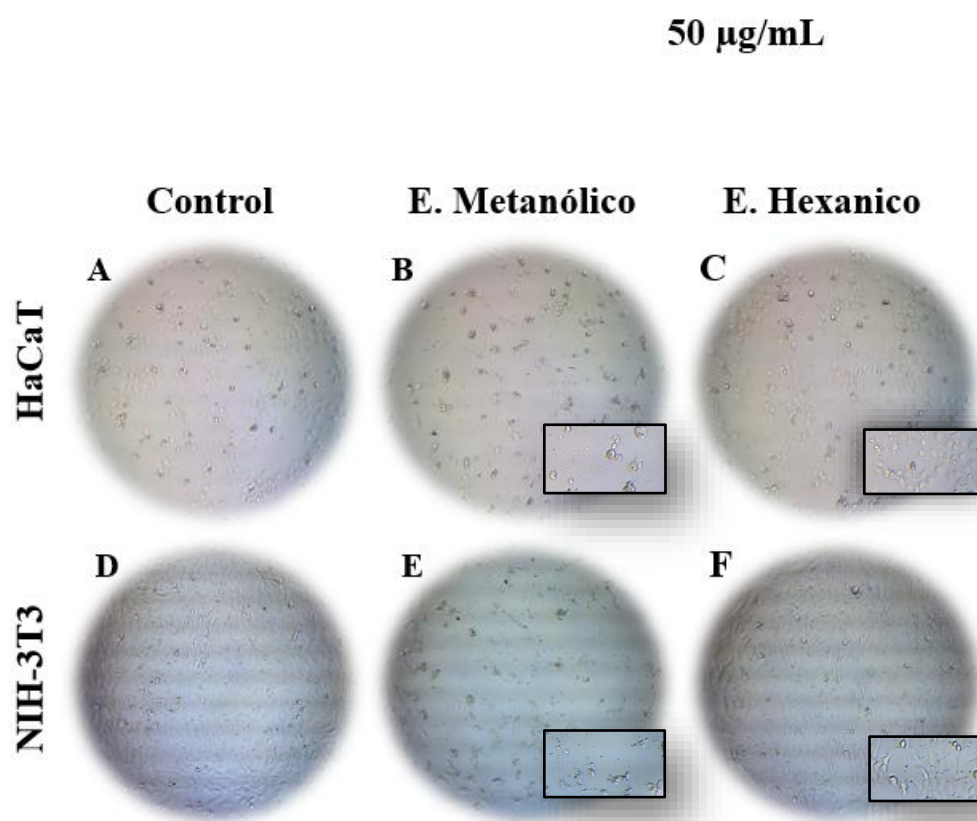


Figura 7.1. Micrografías 4x de células tratadas por 24 h con 50 $\mu\text{g/mL}$ de extractos de *Ficus carica*. Se administraron los extractos en células HaCat y NIH-3T3. Se presenta una columna con las 2 líneas celulares tratadas con el vehículo (A y D), con EM (B, y E) y con EH (C y F). Se aprecia que escasas células tratadas han adquirido forma redondeada. Barra de escala = 300 μm

Donde se observa una morfología redondeada de las células expuestas, con una confluencia similar e incluso mayor en ambos extractos con referencia del control, siendo más abundantes

en las células HaCaT en ambos extractos en comparación con las células NIH-3T3. Mostrando también menores cambios de confluencia en el EM en relación al EH.

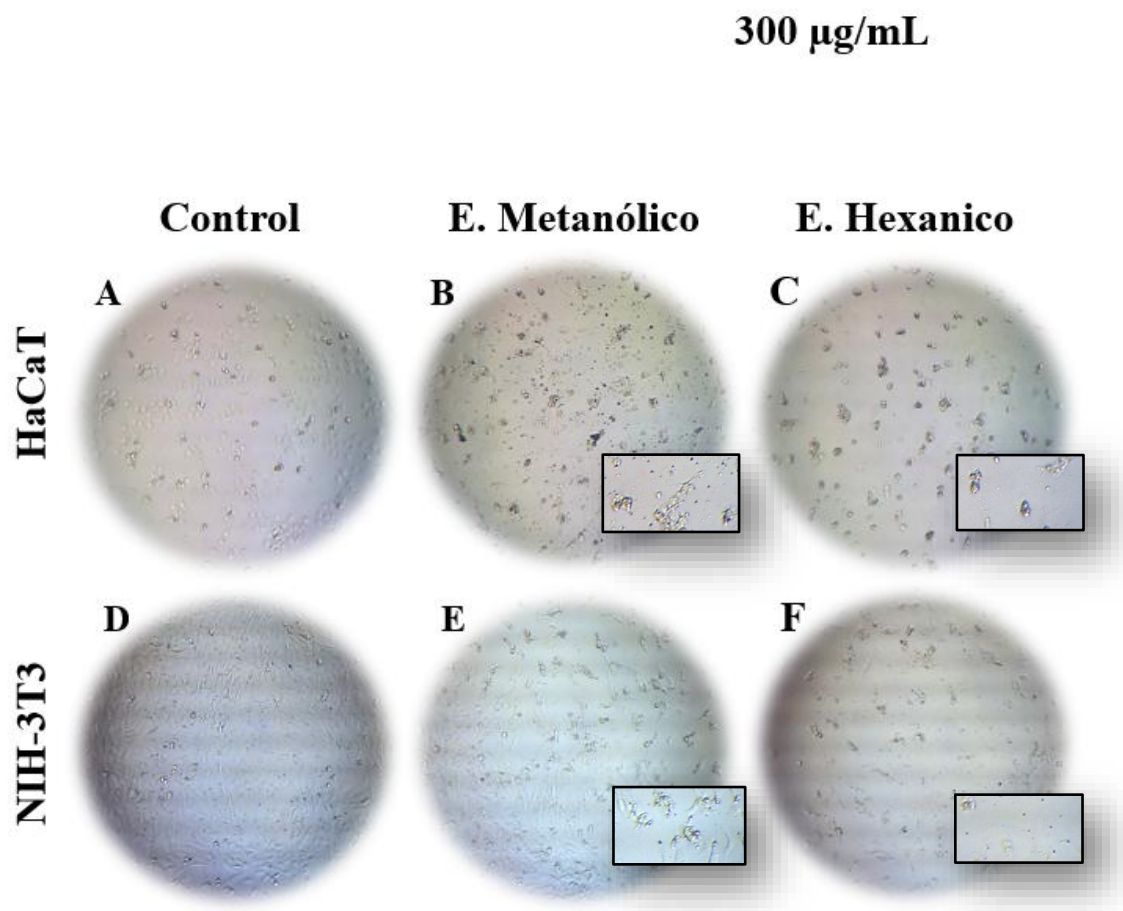


Figura 7. 2. Micrografías a 4X de células tratadas por 24 h con 300 $\mu\text{g/ml}$ de extractos de *Ficus carica*. Se administraron los extractos en células HaCat y NIH-3T3. Se presenta una columna con las 3 líneas celulares tratadas con el vehículo (A y D), con EM (B, y E) y con EH (C y F). Se aprecia que escasas células tratadas han adquirido forma redondeada. Barra de escala = 300 μm

En lo que respecta a la exposición de 300 $\mu\text{g/ml}$ se empiezan a mostrar mayores cambios donde podemos observar una forma redonda de las células mayor tomando como referencia la exposición de 50 $\mu\text{g/ml}$ lo que sugiere una pérdida de adherencia, relacionada con el estrés y muerte celular, mostrando también una ligera disminución de la confluencia en un lapso de 24 h representados en ambos extractos, sin embargo se muestra una menor confluencia y

mayores cambios en las células NIH-3T3 y HaCaT en el extracto hexánico. Mientras que en el metanólico no hay cambios relevantes. (Figura 7.2)

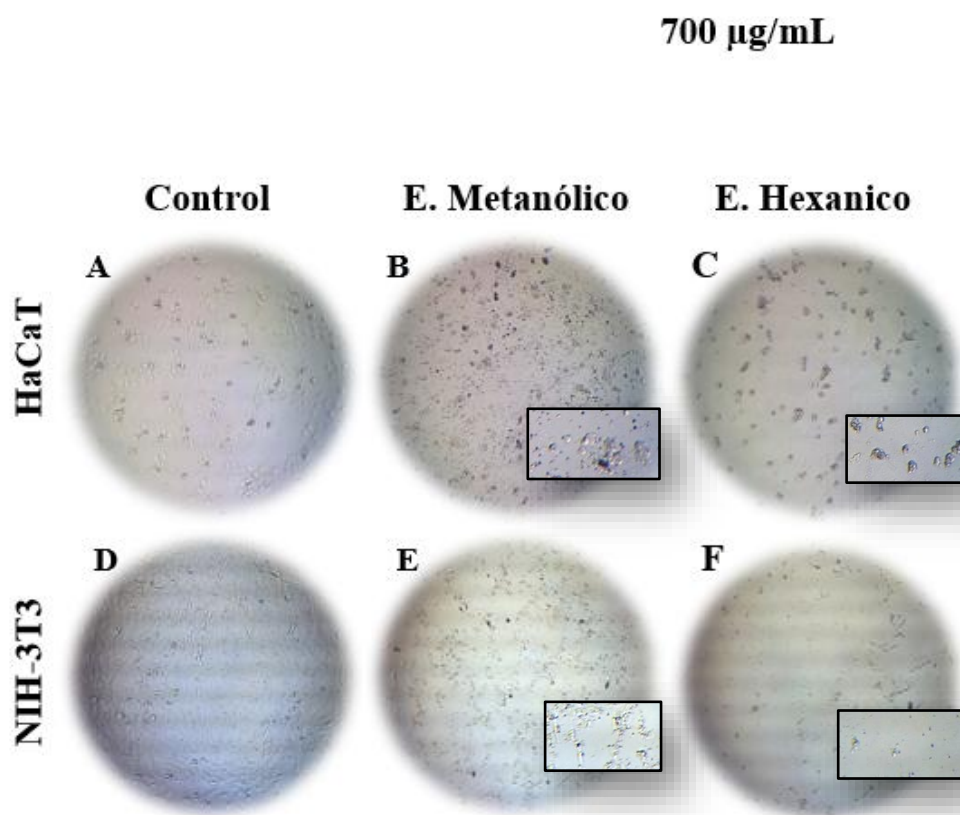


Figura 7.3. Micrografías a 4X de células tratadas por 24 h con 700 µg/ml de extractos de *Ficus carica*. Se administraron los extractos en células HaCat y NIH-3T3. Se presenta una columna con las 3 líneas celulares tratadas con el vehículo (A y D), con EM (B, y E) y con EH (C y F). Se aprecia que escasas células tratadas han adquirido forma redondeada. Barra de escala = 300 µm

Las células expuestas a la mayor concentración utilizada de 700 µg/ml muestran una disminución significativa de la confluencia celular principalmente en las células NIH-3T3 en lo correspondiente al EH, así como inducción a cambios morfológicos dependientes de la concentración por exposición, similares a los resultados anteriores (figura 7.3).

7.5 Análisis Estadístico

En relación a lo analizado en el ensayo de MTT donde se ha evaluado la viabilidad celular, a partir de la actividad mitocondrial, para de esta manera observar el comportamiento de los extractos sobre las células. Dando los siguientes resultados: en un análisis cuantitativo realizado a 24 h posterior a la colocación del tratamiento, se evaluó la distribución de la media obteniendo diferentes resultados en los 2 extractos tratados.

El extracto metanólico se puede apreciar la disminución del porcentaje de viabilidad en relación a los niveles de concentración del extracto, basados en una prueba de control negativo, siendo una disminución constante en proporción de <0.0001 , observando una mayor disminución en células HaCaT en comparación a las células NIH-3T3 basándonos en el mismo extracto.

Se puede apreciar además una mayor disminución de viabilidad en ambos extractos a partir de 300 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 6.4).

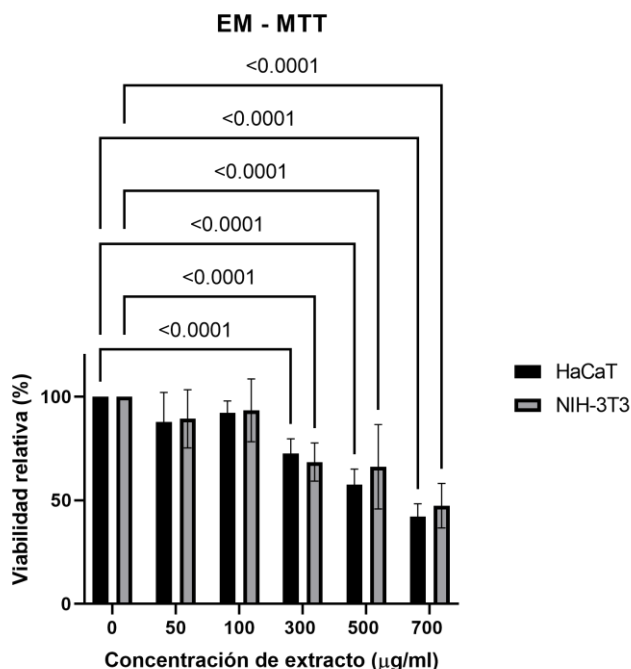


Figura 7.4. Análisis de citotoxicidad por ensayo de MTT en células tratadas por 24 h con diferentes concentraciones de extractos de *Ficus carica*. Se muestran los porcentajes de viabilidad relativa de las líneas HaCaT y NIH-3T3 expuestas a concentraciones de 0, 50, 100, 300, 500 y 700 $\mu\text{g/mL}$ de EM (Extracto Metanólico). $n = 9$. Prueba de comparación múltiple de Sidak's vs Control.

En contraste con lo anterior, se realizó un análisis cuantitativo similar, esta vez evaluando el extracto hexánico, donde a si mismo se muestra una disminución del porcentaje de viabilidad en relación al aumento de concentración del extracto, siendo constante en su mayoría, siendo más evidente esta disminución en las células NIH-3T3 en comparación con las células HaCaT, mostrando resultados similares a los anteriores representados en el extracto metanólico, donde podemos observar un mayor declive a partir de los 300 $\mu\text{g/ml}$, por lo que cabe destacar que a partir de esta concentración es que el extracto se vuelve más citotóxico (figura 6.5).

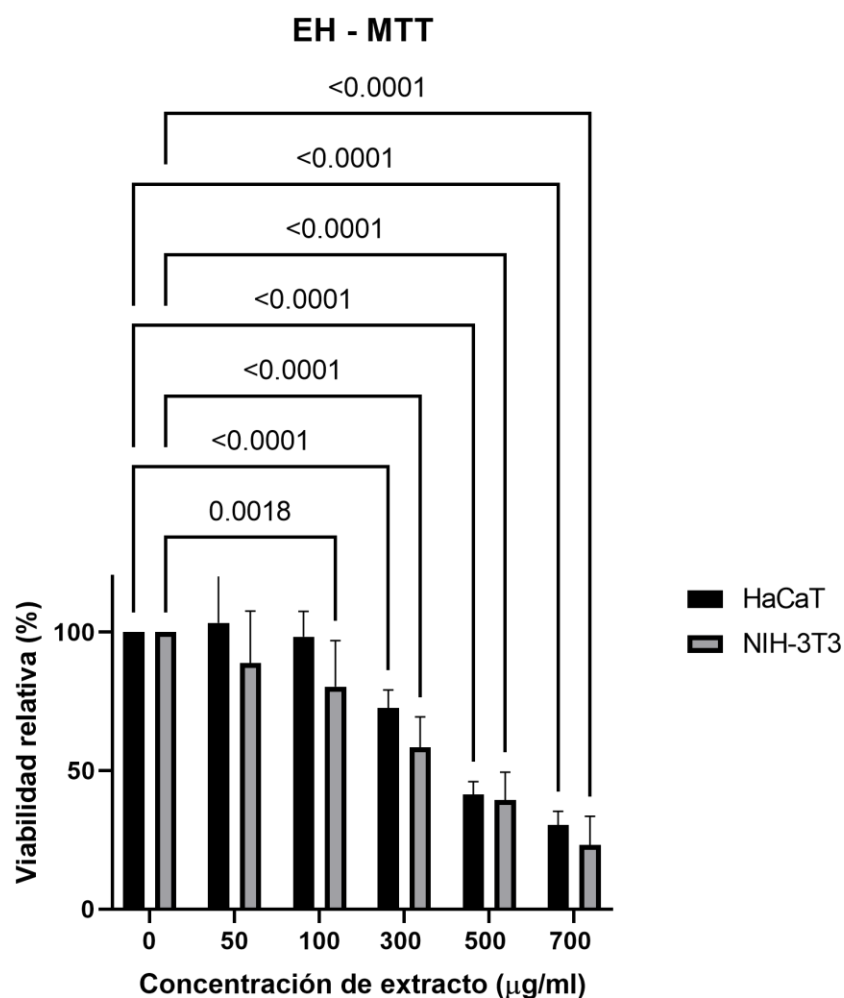


Figura 7.5. Análisis de citotoxicidad por ensayo de MTT en células tratadas por 24 con diferentes concentraciones de extractos de *Ficus carica*. Se muestran los porcentajes de viabilidad relativa de las líneas HaCaT y NIH-3T3 expuestas a concentraciones de 0, 50, 100, 300, 500 y 700 $\mu\text{g/mL}$ de EH (Extracto Hexánico). $n = 9$. Prueba de comparación múltiple de Sidak's vs Control.

8. DISCUSIÓN

El extracto de *Ficus carica* ha sido sujeto a prueba en múltiples investigaciones comenzado por los estudios fitoquímicos que en nuestra investigación han demostrado ser ricos en compuestos KMnO_4 , alcaloides, flavonoides, esteroides y treptenos especialmente en el extracto metanólico, mientras que en otros estudios realizados por Shukranul Mawa y cols. Donde encontraron que Los estudios fitoquímicos de las hojas y frutos de la planta han demostrado que son ricos en fenólicos, ácidos orgánicos y compuestos volátiles, basándose en este caso en un extracto hexánico.

Así mismo, otras investigaciones relacionan el género *Ficus* como un potencial cicatrizante de las heridas al ser ricos en triterpenoides, flavonoides, cumarinas, ácidos fenilpropiónicos y derivados del ácido benzoico, alcaloides, esteroides, otros glucósidos y alcanos, como ocurre con *Ficus hispida* la cual procede de la misma familia que *Ficus carica* que además se relacionan con las mismas fitoquímicas. De esta manera, se puede determinar que la elección de la planta en nuestra investigación tiene un alto potencial como agente cicatrizante a futuro.

En otras investigaciones como la realizada por Rezagholizadeh L et al., 2022, donde se encontró relación de los extractos de *Ficus carica* con un efecto antiinflamatorio, gracias a que esta planta causaba una disminución en la producción de citocinas proinflamatorias, además se realizó el hallazgo de efectos antioxidantes producidos por esta planta. Basándose en extractos de la hoja tal como lo realizamos en esta investigación con el objetivo de localizar los efectos medicinales que la planta pueda llegar a tener.

En la investigación de Nirwana I et al., 2018 realizaron un estudio en base extractos de *Ficus carica*, para determinar su efecto sobre *Enterococcus faecalis*, como bacteria que infecta la pulpa dental, en base a un estudio metanólico, donde se encontró que *Ficus carica* posee un efecto antimicrobiano eficaz contra *Enterococcus faecalis*, además se evaluó la citotoxicidad de la planta en los fibroblastos de la pulpa dental en una mínima concentración, donde se descarta la citotoxicidad de esta, sin embargo al tratarse de una concentración tan baja es que se necesitan más estudios para esta evaluación. En cuanto a la investigación realizada por

nuestra parte se han encontrado poca citotoxicidad en cuanto a las concentraciones utilizadas en este medio, sin embargo, la principal diferencia entre nuestro estudio y el de Nirwana radica en el tipo de investigación y las concentraciones utilizadas del extracto, siendo que el ajeno a nosotros se ha realizado *in vivo* en ratones y el propio, se realizó de manera *in vitro*. En otras investigaciones efectuadas en base a descifrar los efectos medicinales de las hojas de higo se han encontrado diferentes características de utilidad donde la planta ha demostrado ser participe en diferentes procesos presentes en la cicatrización, tal es el caso que se presentó en la investigación realizada en 2022 por Lotfollah Rezagholizadeh y cols. Donde el estudio demostró que, en la mayoría de los compuestos del higo y el olivo, incluidos polifenoles, flavonoides, etc., ejercen sus efectos antiinflamatorios mediante la inhibición o disminución de las citoquinas proinflamatorias.

Nosotros hemos evaluado el efecto que pueda tener *Ficus carica* en células humanas y de rata de fibroblastos y queratinocitos, sin embargo la mayoría de las investigaciones hacia esta planta se centran en otras células y efectos que la plata produce, tal es el caso de la investigación realizada por Eman Yassien donde tuvo como objetivo evaluar el contenido total de fenólicos y flavonoides, los efectos antioxidantes y protectores del acetato de etilo de *Cymbopogon citratus* y el extracto de hoja de hexano de *Ficus carica* en ratas, lo que conlleva a una situación similar a la presentada anteriormente, donde su evaluación se basa principalmente en estudios *in vivo*, y los nuestros han sido realizados *in vitro*. Otra investigación importante en relación al contexto anterior es la de Feng J y cols. En la que se realizaron pruebas *in vivo* sobre heridas del andamio polimérico anfifílico de pacientes diabéticos, los cuales se caracterizan por tener un retraso en el proceso de cicatrización, donde se utilizaron extractos de frutas de *Ficus carica* para facilitar el proceso de cicatrización, demostrando un efecto positivo en este proceso, es por ello que nosotros decidimos el uso de extractos de las hojas de *Ficus carica* para determinar un resultado similar al de su fruto con el fin de facilitar y ampliar el uso de productos naturales que faciliten la cicatrización en personas con problemas sistémicos.

El género *Ficus* se ha utilizado para facilitar los procesos de cicatrización como es el caso de la *Opuntia ficus-indica*, la cual, en la investigación de Koshak AE y cols. esta planta ha

demostrado un favorable efecto de cicatrización sobre las heridas profundas en ratas, en base al aceite de su semilla, así mismo, lo encontrado por el estudio de Hashad IM donde extractos de *Ficus trijuja*, mostraron una buena capacidad para fomentar el proceso de cicatrización de la las heridas, en estudios realizados en ratas, es por ello que se ha determinado el uso de *Ficus carica* para la realización de esta investigación, ya que los extractos de *Ficus carica* contienen flavonoides, terpenoides presentes en los extractos antes mencionados, además de pertenecer a las mismas familias, por lo que se puede estimar un resultado similar a los extracto antes mencionados.

Además, se ha estimado que los extractos de la familia ficus tienen efectos benéficos sobre las células presentes en el 'proceso de cicatrización, como lo son los queratinocitos, como es el caso de los extractos de *Opuntia ficus-indica* los cuales demostraron favorecer el proceso de cicatrización ya que demostró una regulación positiva de NRF2-NQO1 a través de la activación del receptor de hidrocarburos de arilo (AHR) (Nakahara T et al., 2015), por lo que se estima que esta familia en particular comparta características favorables para los procesos de cicatrización y regeneración.

9. CONCLUSIONES

Esta investigación proporciona información del efecto de los extractos metanólico y hexánico de *Ficus carica* sobre las líneas celulares HaCat y NIH-3T3, a partir de diferentes ensayos, donde se determinó su polaridad individual con un análisis fitoquímico donde se observó una ligera diferencia en la identificación de algunos compuestos. A partir de estos se evaluó la citotoxicidad presente de los diferentes extractos a raíz de un ensayo MTT, donde se pudo apreciar una disminución constante de la viabilidad celular, así como de la confluencia de las mismas en base a un aumento de la concentración de los extractos, siendo pues que se obtuvo una disminución mayor a partir de los 300 µg/ml, por lo que podemos determinar que a partir de esta concentración es que se empieza a tener citotoxicidad.

Es por ello que se puede contemplar la posibilidad de utilizar a *Ficus carica* como componente para la medicina alternativa a partir de los procesos de cicatrización y regeneración de los queratinocitos y fibroblastos, manteniendo concentraciones menores a los 300 µg/ml. Por lo que es importante a futuro estudiar su mecanismo de acción sobre estas células así como la identificación del compuesto con actividad cicatrizante.

10. LITERATURA CITADA

Abdolinejad R, Shekafandeh A, Jowkar A. In vitro tetraploidy induction creates enhancements in morphological, physiological and phytochemical characteristics in the fig tree (*Ficus Carica* L.). *Plant Physiol Biochem*. 2021 Sep;166:191-202.

Antonio Pereira I, Judah Cury B, Kaio Silva Nunes R, Mota da Silva L. Plantas tradicionales utilizadas en el sur de Brasil como fuente para terapias de cicatrización de heridas. *Biobuzos químicos*. febrero de 2023; 20(2):e202201021.

Arumugam B, Subramaniam A, Alagaraj P. A Review on Impact of Medicinal Plants on the Treatment of Oral and Dental Diseases. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2020;18(2):79-93.

Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH, Mahajan RT. Usos tradicionales, fitoquímica y farmacología del *Ficus carica*: una revisión. *Pharm Biol*. noviembre de 2014; 52(11):1487-503.

Barolo MI, Ruiz Mostacero N, López SN. *Ficus carica* L. (Moraceae): an ancient source of food and health. *Food Chem*. 2014 Dec 1;164:119-27.

Blanchard G, Pich C, Hohl D. Células HaCaT como sistema modelo para estudiar los cilios primarios en los queratinocitos. *Exp Dermatol*. Agosto de 2022; 31(8):1276-1280.
Cantante AJ, Clark RA. Cicatrización de heridas cutáneas. *N Engl J Med*. 2 de septiembre de 1999; 341(10):738-46.

Cantante AJ. Mecanismos de cicatrización en heridas cutáneas: inclinando la balanza. *Tissue Eng Parte B Rev*. 2022 Oct; 28(5):1151-1167.

Carvajal Rojas Lyndon, Hata Uribe Yoshie, Sierra Martínez Noralba, Rueda Niño Diana. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE HOJAS, TALLOS Y SEMILLAS DE CUPATÁ (*Strychnos schultesiana* Krukoff). Colomb. 2009 Dic; 12(1): 161-170.

Cruz Martínez C, Diaz Gómez M, Oh MS. Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. Pharm Biol. 2017 Dec;55(1):1992-1998.

Del Refugio Lara-Banda Joel Horacio Elizondo-Luevano Abelardo Chávez-Montes Juan Gabriel Báez-González * and Osvelia Esmeralda Rodríguez-Luis MZT-GAKS-VSML-VM. Production and Preliminary Characterization of Linseed Mucilage-Based Films Loaded with Cardamom (*Elettaria cardamomum*) and Copaiba (*Copaifera officinalis*). coatings. 2023;(13):1574.

Feng J, Niu Y, Zhang Y, Zuo H, Wang S, Liu X. *Ficus carica* Extracto de andamio de polímero anfifílico impregnado para la regeneración de tejidos de heridas diabéticas. Células Artif Nanomed Biotechnol. Dic 2021; 49(1):219-229.

Gonzalez AC, Costa TF, Andrade ZA, Medrado AR. Cicatrización de heridas: una revisión de la literatura. Un sujetador dermatol. septiembre de 2016; 91(5):614-620.

Guillén-Meléndez GA, Villa-Cedillo SA, Pérez-Hernández RA, Castillo-Velázquez U, Salas-Treviño D, Saucedo-Cárdenas O, Montes-de-Oca-Luna R, Gómez-Tristán CA, Garza-Arredondo AJ, Zamora-Ávila DE, et al. Efecto citotóxico in vitro de extractos de *Acalypha monostachya* sobre líneas celulares tumorales humanas. *Plantas*. 2021; 10(11):2326.

Hajam TA, H S. Phytochemistry, biological activities, industrial and traditional uses of fig (*Ficus carica*): A review. Chem Biol Interact. 2022 Oct 23;368:110237.

Hashad IM, Aly SH, Saleh DO, Abo El-Nasr NME, Shabana ME, El-Tokhy FS, El-Nashar HAS, Abdelmohsen UR, Mostafa NM, Mostafa AM. Cicatrización mecanicista de heridas de *Ficus trijuja* Extracto de hoja y su nanocápsula lipídica respaldada por perfiles metabolómicos y estudios in vivo. Int J Mol Sci. 23 de enero de 2025; 26(3):928.

Fazel MF, Abu IF, Mohamad MHN, Mat Daud NA, Hasan AN, Aboo Bakkar Z, Md Khir MAN, Juliana N, Das S, Mohd Razali MR, Zainal Baharin NH, Ismail AA. Potencial físico, nutricional y terapéutico del *Ficus carica*: un nutraceutico prometedor. Drug Des Devel Ther. 30 de mayo de 2024;18:1947-1968.

Feng J, Niu Y, Zhang Y, Zuo H, Wang S, Liu X. Ficus carica extract impregnated amphiphilic polymer scaffold for diabetic wound tissue regenerations. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2021 Dec;49(1):219-229.

Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. Int J Mol Sci. 2021 Nov 26;22(23):12827.

Grela E, Kozłowska J, Grabowiecka A. Current methodology of MTT assay in bacteria - A review. Acta Histochem. 2018 May;120(4):303-311.

Hajam TA, H S. Fitoquímica, actividades biológicas, usos industriales y tradicionales del higo (*Ficus carica*): Una revisión. Interacción de Chem Biol. 1 de diciembre de 2022;368:110237.

Ibarra-Manríquez Guillermo, Cornejo-Tenorio Guadalupe, González-Castañeda Nahú, Piedra-Malagón Eva María, Luna Albino. El género *Ficus* L. (Moraceae) en México. Bot. sci 2012; 90(4): 389-452.

Jiang D, Rinkevich Y. Distinct fibroblasts in scars and regeneration. Curr Opin Genet Dev. 2021 Oct;70:7-14.

Khodarahmi GA, Ghasemi N, Hassanzadeh F, Safaie M. Cytotoxic Effects of Different Extracts and Latex of *Ficus carica* L. on HeLa cell Line. Iran J Pharm Res. 2011 Spring;10(2):273-7.

Knoedler S, Knoedler L, Kauke-Navarro M, Rinkevich Y, Hundeshagen G, Harhaus L, Kneser U, Pomahac B, Orgill DP, Panayi AC. Células T reguladoras en la regeneración de la piel y la cicatrización de heridas. Mil Med Res. 2023 Oct 23; 10(1):49.

Koshak AE, Algandaby MM, Mujallid MI, Abdel-Naim AB, Alhakamy NA, Fahmy UA, Alfarsi A, Badr-Eldin SM, Neamatallah T, Nasrullah MZ, M Abdallah H, Esmat A. *Opuntia ficus-indica* Aceite fijo formulado en una formulación auto-nanoemulsionante. Int J Nanomedicina. 9 de junio de 2021;16:3889-3905.

Kumar M, Prakash S, Radha, Kumari N, Pundir A, Punia S, Saurabh V, Choudhary P, Changan S, Dhumal S, Pradhan PC, Alajil O, Singh S, Sharma N, Ilakiya T, Singh S, Mekhemar M. Beneficial Role of Antioxidant Secondary Metabolites from Medicinal Plants in Maintaining Oral Health. Antioxidants (Basel). 2021 Jun 30;10(7):1061.

Li Z, Yang Y, Liu M, Zhang C, Shao J, Hou X, Tian J, Cui Q. A comprehensive review on phytochemistry, bioactivities, toxicity studies, and clinical studies on *Ficus carica* Linn. leaves. Biomed Pharmacother. 2021 May;137:111393.

Mawa S, Husain K, Jantan I. *Ficus carica* L. (Moraceae): Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities. Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:974256.

Moghadam ET, Yazdanian M, Tahmasebi E, Tebyanian H, Ranjbar R, Yazdanian A, Seifalian A, Tafazoli A. Current herbal medicine as an alternative treatment in dentistry: In vitro, in vivo and clinical studies. Eur J Pharmacol. 2020 Dec 15;889:173665.

Mosić M, Dramićanin A, Ristivojević P, Milojković-Opsenica D. Extraction as a Critical Step in Phytochemical Analysis. *J AOAC Int.* 2020 Apr 1;103(2):365-372.

Nirwana I, Rianti D, Soekartono RH, Listyorini RD, Basuki DP. Antibacterial activity of fig leaf (*Ficus carica* Linn.) extract against *Enterococcus faecalis* and its cytotoxicity effects on fibroblast cells. *Vet World.* 2018 Mar;11(3):342-347. Oliveira AP, Valentão P, Pereira JA, Silva BM, Tavares F, Andrade PB. *Ficus carica* L.: Metabolic and biological screening. *Food Chem Toxicol.* 2009 Nov;47(11):2841-6.

Nakahara T, Mitoma C, Hashimoto-Hachiya A, Takahara M, Tsuji G, Uchi H, Yan X, Hachisuka J, Chiba T, Esaki H, Kido-Nakahara M, Furue M. El extracto antioxidante de *Opuntia ficus-indica* activa la señalización de AHR-NRF2 y regula al alza la expresión de filagrina y loricrina en los queratinocitos humanos. *J Med Comida.* Octubre de 2015; 18(10):1143-9.

Núñez J, Vignoletti F, Caffesse RG, Sanz M. Cellular therapy in periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* 2019 Feb;79(1):107-116.

Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, Patel SB, Khalid L, Isseroff RR, Tomic-Canic M. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2014 Jul 1;3(7):445-464.

Pechersky AV, Pechersky VI, Shpilenny ES, Gaziev AH, Semiglazov VF. Regeneration and Cicatrization. *J Stem Cells.* 2016;11(2):89-97.

Piipponen M, Li D, Landén NX. The Immune Functions of Keratinocytes in Skin Wound Healing. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 20;21(22):8790.

Rahimi AM, Cai M, Hoyer-Fender S. Heterogeneidad de la línea celular de fibroblastos NIH3T3. *Células.* 28 de agosto de 2022; 11(17):2677.

Rasool IFU, Aziz A, Khalid W, Koraqi H, Siddiqui SA, Al-Farga A, Lai WF, Ali A. Industrial Application and Health Prospective of Fig (*Ficus carica*) By-Products. *Molecules*. 2023 Jan 18;28(3):960.

Reinke JM, Sorg H. Reparación y regeneración de heridas. *Eur Surg Res*. 2012; 49(1):35-43.

Rezagholizadeh L, Aghamohammadian M, Oloumi M, Banaei S, Mazani M, Ojarudi M. Inhibitory effects of *Ficus carica* and *Olea europaea* on pro-inflammatory cytokines: A review. *Iran J Basic Med Sci*. 2022 Mar;25(3):268-275.

Salehi B, Prakash Mishra A, Nigam M, Karazhan N, Shukla I, Kiełtyka-Dadasiewicz A, Sawicka B, Głowacka A, Abu-Darwish MS, Hussein Tarawneh A, Gadetskaya AV, Cabral C, Salgueiro L, Victoriano M, Martorell M, Docea AO, Abdolshahi A, Calina D, Sharifi-Rad J. *Ficus* plants: State of the art from a phytochemical, pharmacological, and toxicological perspective. *Phytother Res*. 2021 Mar;35(3):1187-1217.

Saeed MA, Sabir AW. Irritant potential of triterpenoids from *Ficus carica* leaves. *Fitoterapia*. 2002 Aug;73(5):417-20.

Saghazadeh A. Explorando la versatilidad farmacológica del *ficus carica*: modulando el inmunometabolismo clásico y más allá. *Pharmacol Res*. 2023 Dic;198:107010.

Schuster R, Rockel JS, Kapoor M, Hinz B. The inflammatory speech of fibroblasts. *Immunol Rev*. 2021 Jul;302(1):126-146.

Solís Ramírez, David G-vmi. Perfil fitoquímico de compuestos bioactivos y determinación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales. *Revista de Divulgación Científica*. 2017; 3:27–32.

Solomon A, Golubowicz S, Yablowicz Z, Bergman M, Grossman S, Altman A, Kerem Z, Flaishman MA. Protection of fibroblasts (NIH-3T3) against oxidative damage by

cyanidin-3-rhamnoglucoside isolated from fig fruits (*Ficus carica* L.). *J Agric Food Chem*. 2010 Jun 9;58(11):6660-5.

Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Cicatrización de heridas cutáneas: una actualización de los conocimientos y conceptos actuales. *Eur Surg Res*. 2017; 58(1-2):81-94.

Stockert JC, Horobin RW, Colombo LL, Blázquez-Castro A. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochem*. 2018 Apr;120(3):159-167.

Toma AI, Fuller JM, Willett NJ, Goudy SL. Modelos de cicatrización de heridas orales y terapias regenerativas emergentes. *Transl Res*. 2021 Oct;236:17-34.

Usai G, Mascagni F, Giordani T, Vangelisti A, Bosi E, Zuccolo A, Ceccarelli M, King R, Hassani-Pak K, Zambrano LS, Cavallini A, Natali L. Epigenetic patterns within the haplotype phased fig (*Ficus carica* L.) genome. *El diario de la planta*. 2020; 102 (3):600–614.

Valentina ANI. Estrategias de tratamiento para heridas infectadas. *Moléculas*; 2018.

Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. *J Chin Med Assoc*. 2018 Feb;81(2):94-101.

Vitale S, Colanero S, Placidi M, Di Emidio G, Tatone C, Amicarelli F, D'Alessandro AM. Fitoquímica y actividad biológica de las plantas medicinales en la cicatrización de heridas: una visión general de la investigación actual. *Moléculas*. 1 de junio de 2022; 27(11):3566.

Wang JC, Fort CL, Matl CM, Harvey BD, Demke JC, Thomas JR, Sidle DM. Efectos de los aceites esenciales en las cicatrices y la cicatrización de heridas: una revisión sistemática. *Cirugía de Plast Facial* 2023 Abr; 39(2):173-179.

Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol.* 2020 Sep;10(9):200223.

Wilson VG. Crecimiento y diferenciación de queratinocitos HaCaT. *Métodos Mol Biol.* 2014;1195:33-41.

Woodley DT. Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis: Implications for Wound Healing. *Dermatol Clin.* 2017 Jan;35(1):95-100.

Zhang T, Chen M, Li D, Zheng J, Sun Y, Liu R, Sun T. Revisión de los avances recientes en polisacáridos de *Ficus carica*: extracción, purificación, características estructurales, bioactividades y aplicaciones potenciales. *Int J Biol Macromol.* noviembre de 2024; 281(Pt 3):136430.

Zheng K, Niu W, Lei B, Boccaccini AR. Immunomodulatory bioactive glasses for tissue regeneration. *Acta Biomater.* 2021 Oct.

Anexo 1



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA
HERBARIO DE LA FCB

Herbario UNL, FCB UANL a 17 de junio del 2024

Paola Cristina Pérez Valenzuela,

Por medio de la presente manifiesto que el ejemplar con voucher 25602 *Ficus carica* L., está depositado en el Herbario UNL de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.



Atte. María Magdalena Salinas Rodríguez
Curadora del Herbario UNL, FCB UANL



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66455
8183294110, ext.6456