

Cerámicas mexicanas para cicatrización de piel

María Cristina Piña-Barba,* Adriana Tejeda-Cruz,* Miguel Angel Regalado-Hernández,* María Isabel Arenas-Reyes,* Salvador Martín-Mandujano,** César Montalvo**

Recepción versión modificada 16 de diciembre del 2002; aceptación 16 de diciembre del 2002

Resumen

Se utilizaron 60 ratas Wistar, que fueron evaluadas a los 15, 30 y 45 días después de la cirugía.

Se quitó un cuadro de piel del lomo del animal, removiendo la epidermis y la dermis hasta alcanzar la fascia muscular donde se aplicó el material de experimentación. Se usó Nitrofurazona como control positivo y ningún material como control negativo. Los materiales a probar fueron fosfatos de aluminio a los que se agregó: 0.55% en peso de Zn y 0.30% en peso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, siendo éste el material A, y 0.55% en peso de Zn y 0.66% en peso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ el material B. Se trataron cinco ratas con cada material.

Los objetivos del trabajo fueron la obtención de las cerámicas a probar y la evaluación de su efecto sobre el proceso de cicatrización de piel de ratas.

Los materiales obtenidos fueron caracterizados con DRX. Estudios histopatológicos probaron que los mejores procesos de cicatrización de la piel se observaron en las ratas tratadas con el material A. El uso de las cerámicas AlPO para cicatrización de piel no ha sido reportado antes.

Palabras clave: Curación de heridas, dermis, cicatrices, compuestos de aluminio, MSHIM: G4.185.753.891+, A1.835.180+, A10.165.775.300, D1.56+

Introducción

Debido a la cantidad de eventos en donde la piel está sujeta a heridas o alteraciones de su integridad, como quemaduras, abrasiones, contusiones, laceraciones, punciones, etcétera, ha sido de gran importancia el estudio de medicamentos o materiales que ayuden en su reparación.¹ Por lo anterior y porque algunas enfermedades alteran la cicatrización de la piel, es de interés el desarrollo de materiales que promuevan la cicatrización y ayuden en la reparación del tejido faltante.

Summary

Sixty female Wistar rats were employed and divided into three experimental groups of 20 rats each. Groups were evaluated at 15, 30, and the last at 45 days after surgery. Each group was divided into four sets of five rats each. All rats were subjected to surgery; an incision of 2 x 2 cm was done on the back of each animal, removing tissue until reaching muscular fascia, where the material was applied. Nitro-furazone was employed as positive control. Test materials were AlPO added with 0.55% wt of Zn; 0.30% wt of $\text{Ca}(\text{OH})_2$, and AlPO added with 0.55% wt of Zn and 0.66% wt of $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Finally, as negative control no material was used. The object of this work was in the first place obtention of test materials and to evaluate the healing skin process in rats using AlPO enriched with Zn and $\text{Ca}(\text{OH})_2$; as indicated previously.

Obtained materials were characterized employing XRD. Histologic studies tested showed that best healing process of dermal tissue corresponded to rats treated with AlPO added with 0.55% wt of Zn and 0.30% wt of $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Use of AlPO ceramics to repair skin has not been reported previously.

Key words: Wound healing, dermis, scars, aluminium compounds MSHIM: G4.185.753.891+, A1.835.180+, A10.165.775.300, D1.56+

Debido a la importancia que tiene un proceso de cicatrización rápido y eficiente, se han realizado numerosos estudios para encontrar agentes que aceleren y mejoren este proceso.²⁻⁹ En este trabajo se presenta el proceso de preparación de aluminofosfatos enriquecidos con Ca y Zn (cerámicas); también se presentan los efectos de la aplicación de las cerámicas elaboradas en heridas producidas en ratas Wistar, sobre la cicatrización de su piel. Cabe aclarar que la aplicación de estas cerámicas como ayuda en la cicatrización de la piel no se ha reportado con anterioridad.

* Instituto de Investigaciones en Materiales, UNAM. Laboratorio de Biomateriales A.P. 70-360, México 04510 D.F. mcpcb@servidor.unam.mx

** Facultad de Medicina, UNAM, Departamento de Cirugía, Ciudad Universitaria, México 04510 D.F. laparos@servidor.unam.mx

Correspondencia y solicitud de sobretiros:

Estas cerámicas son aluminofosfatos hidratados que tienen en su estructura cavidades que pueden ser ocupadas por los iones de Ca y Zn,¹⁰ las cuales juegan un papel importante en la cicatrización de la piel y tienen un efecto evidente en la rápida reepitelización, en la formación del tejido de granulación y proveen un mejor proceso de cicatrización del tejido, además de estimular el crecimiento de pelo normal.

Importancia del calcio y zinc en el proceso de cicatrización

Calcio

El calcio juega un papel importante en la regulación de la diferenciación celular y descamación de los queratinocitos epidérmicos² y cumple una función clave en la regulación y coordinación de la diferenciación terminal de las células, es precursor de varios eventos terminales asociados con el estrato córneo (EC).

Otras evidencias apoyan la importancia del calcio en la regulación de la diferenciación epidérmica y la descamación.^{3,4} El Ca también está involucrado en la formación de las capas lípidas. También se ha sugerido que el calcio puede estar involucrado en un mecanismo de protección de corneosomas (desmosomas modificados) en contra de la proteólisis prematura y en la inhibición de enzimas proteolíticas involucradas en la descamación.⁵

Zinc

El zinc es el segundo metal más abundante en el cuerpo humano y se encuentra presente en todas las células y secreciones del cuerpo. La concentración en sangre del zinc en un humano adulto va de 90 a 130 mg/mL y de ésta 20% del total se encuentra localizado en la piel, en forma de metaloproteínas.¹¹ El zinc forma parte de más de 70 metaloproteínas presentes en el organismo, polimerasas de DNA y RNA, transcriptasas reversas, proteasas y más de 300 proteínas que tienen un papel central en la reconstrucción de la piel lesionada.^{11,12} El zinc es esencial para la actividad de muchas enzimas involucradas en la síntesis de proteínas y lípidos. Se ha sugerido que funciona como inactivador del sistema enzimático de las bacterias.¹³

Se ha reportado que las concentraciones de zinc cambian dependiendo del proceso de cicatrización de la herida. Estudios experimentales muestran que las concentraciones de zinc en los márgenes de las heridas son 15–20 % más altos que en el resto de la piel, este incremento es suministrado por el zinc en el plasma.¹¹ También se ha demostrado que la administración tópica

de zinc reduce la fase inicial de la hemorragia de una herida en piel y promueve el crecimiento tanto de la piel dañada como del pelo.¹² El zinc es utilizado para promover la cicatrización de las heridas.

Sin los niveles adecuados de zinc, las células epiteliales y los fibroblastos pueden migrar normalmente, pero no pueden reproducirse, en esas condiciones no hay epitelización y la síntesis de colágena es inadecuada para mantener la curación de la herida. Además, el zinc estabiliza las membranas celulares y los lisosomas, altos niveles de zinc pueden inhibir la fagocitosis e interferir en el entrecruzamiento de la colágena.

La administración tópica de zinc a pacientes con bajos niveles del mismo en sangre y en los tejidos puede restablecer una curación normal de las heridas, pero la administración de zinc a pacientes con niveles normales de este elemento no acelera la curación de las heridas. La administración de Zn puede hacerse en forma de pasta, crema o como emoliente, entre otras.¹³

Materiales y Métodos

Obtención de las cerámicas aluminofosfatos enriquecidos con Ca y Zn

El proceso de obtención de las cerámicas consiste en hacer dos soluciones, la primera es una solución de 72 mL de agua deionizada con 0.182 mol de Al_2O_3 (alúmina), y la segunda consiste en 72 mL de agua deionizada con 28.60 ml de H_3PO_4 (ácido fosfórico) y 0.016 mol de $ZnSO_4 \cdot H_2O$ (sulfato de zinc hidratado). Ambas soluciones se mezclan y se añade $Ca(OH)_2$ (hidróxido de calcio) en cantidades específicas previamente determinadas. El pH se ajusta entre 1.5 y 4.0 usando $(HOCH_2CH_2)_3N$ (trietanolamina). Se les da un tratamiento hidrotérmico a 110°C y finalmente se secan las cerámicas obtenidas a 80°C.¹⁴

Cuando se agregó 0.55% en peso de Zn y 0.30% en peso de $Ca(OH)_2$ el material se identificó como A y si la cantidad de $Ca(OH)_2$ cambia a 0.66% en peso y se mantiene la de 0.55% en peso de Zn se denominó material B.

Las cerámicas fueron caracterizadas mediante Difracción de Rayos X, se midió la densidad con un picnómetro.

Pruebas In vivo

Se usaron 60 ratas Wistar hembras, sanas, de aproximadamente 250 g de peso. Fueron divididas en cuatro grupos de 15 ratas cada uno. A las ratas del primer grupo se les trató con Nitrofurazona (5-nitro-2-furaldehido-

semicarbazona) que fue utilizada como control positivo; las ratas del segundo grupo fueron tratadas con el material A y a las del tercero con el material B, estos materiales fueron mezclados con petrolato puro como vehículo dérmico para evitar que los animales se lo removieran del lomo; al último grupo de ratas se le dejó sin medicamento, como control negativo.

Las ratas fueron preparadas 5 días antes de la cirugía, después de los cuales se realizó una incisión en el lomo de los animales de 2x2 cm removiendo la dermis, la epidermis y la fascia lata. Se aplicó el material en la herida, cada 24 horas. Cinco ratas de cada grupo fueron sacrificadas a los 15, a los 30 y a los 45 días después de la cirugía obteniéndose el tejido regenerado para su estudio histológico, el objetivo fue comparar los procesos de curación provocados por los diferentes materiales.

Cirugía

Se usó anestesia intraperitoneal, la dosis se calculó de acuerdo con el peso del animal. Se preparó para cirugía un cuadrado de 2x2 cm, el cual se limpió, se rasuró, se desinfectó y se marcó con tinta indeleble. Se realizó una incisión de 2-3 mm de profundidad hasta alcanzar la fascia muscular. La piel y la fascia muscular fueron removidas y el tratamiento respectivo fue administrado, (Figura 1). Después de la cirugía los animales fueron mantenidos en bioterio con libre acceso a agua y comida.

Durante el proceso de curación se registraron variables que ofrecen información importante sobre la evolución del proceso de cicatrización de la piel. Los factores analizados durante el periodo de curación fueron los marcados por los estándares internacionales de la ASTM:^{15,16}

- Secreción
- Infección
- Formación de edema
- Presencia de pelo
- Formación de eritemas

Al final de cada periodo de evaluación los animales fueron sacrificados y el área de la piel regenerada de cada rata fue preparada para su estudio histológico. Los tejidos fueron fijados en buffer de fosfato e incluidos en parafina. Se cortaron secciones transversales de los tejidos de 5 mm y se usaron Hematoxilina-Eosina y Tricrómica de Masón para teñirlos.

Se estudiaron cinco campos al azar de cada rata por microscopía óptica con una amplificación de 400x. Cada campo fue dividido en superficies de 10x10 mm, en cada caso se obtuvieron seis cuadros por campo, en total se analizaron más de 600 campos biológicos. Los estudios hechos fueron:

- Análisis estructural
- Análisis morfométrico
- Medida del grueso del estrato córneo y de la capa epidérmica
- Conteo de varios tipos celulares en cada campo
- Conteo de capilares por campo

Resultados y discusión

Materiales obtenidos

Las cerámicas obtenidas fueron caracterizadas con difracción de rayos X. Los materiales resultantes fueron identificados como AlPO_4 o fosfato de aluminio, $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o variscita, $\text{CaP}_4\text{O}_{11}$ o fosfato de calcio, $\text{CaZn}_2(\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o scholzita y $\text{ZnHPO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o fosfito de hidrógeno hidratado para el material A y AlPO_4 , $\text{AlPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ o aluminio fosfato hidratado, $\text{CaP}_4\text{O}_{11}$ o fosfato de calcio, $\text{CaZn}_2(\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o scholzita, para el material B.¹⁴ Se encontró que el pH influye en la formación de material cristalino, la mayor relación de material cristalino/amorfo corresponde a un pH de 3.0. La densidad medida con picnómetro para el material A fue de $2.16 \pm 0.06 \text{ g/cm}^3$, para el material B fue de $2.22 \pm 0.03 \text{ g/cm}^3$.

Resultados experimentales

El cuadro I muestra el comportamiento de las variables consideradas a 15, 30 y 45 días después de la cirugía. Se muestra que hay una secreción moderada que tiende a decrecer con el tiempo. Esto ocurre para todos los animales, sin embargo en el caso del material B la presencia de una secreción moderada permaneció por más tiempo.

Un factor desfavorable para la curación de la herida es la presencia de infección, porque puede provocar que se haga lenta o que se detenga la curación, no se presentó infección en ninguno de los animales del estudio.

El proceso inflamatorio fue moderado para cada grupo durante 5 o 6 días y disminuyó con el tiempo a excepción del grupo control en el que perduró unos días más.

La aparición del pelo se observó primeramente en las ratas tratadas con el material A, seguidas por las tratadas con el material B, días después se presentó en los otros dos grupos.

El edema fue grave durante los tres primeros días en animales provistos con el material B. Para los otros animales el edema fue moderado hasta el sexto día, luego decreció con el tiempo. Fueron las ratas tratadas con el material A a las que les duró menos tiempo el edema.

Las ratas tratadas con el material A presentaron un eritema leve alrededor del área de la herida mientras que para los demás animales el eritema fue muy marcado.

El cuadro II muestra los resultados del grueso de la epidermis en los diferentes periodos de evaluación: 15, 30 y 45 días. Se observó que la capa epidérmica fue más gruesa durante las primeras semanas, y que disminuyó

con el tiempo, esta capa fue más gruesa en los animales tratados con el material B; el grupo control presentó la epidermis más delgada. En todos los animales experimentales el estrato córneo mostró una tendencia a

Cuadro I. Comportamiento de las variables clínicas consideradas a 15, 30 y 45 días después de la cirugía

Variable clínica	Tiempo de evaluación (días)	Lote Control	Lote Furazina	Lote ALPO + Ca ²⁺ (0.5%)	Lote ALPO + Ca ²⁺ (1.1%)
Secreción	15	M	M	M	M
	30	M	M	M	M
	45	M	M	M	M
Infección	15	A	A	A	A
	30	A	A	A	A
	45	A	A	A	A
Edema	15	M	M	M	M
	30	M	M	M	S
	45	M	M	M	M
Presencia de pelo	15	A	A	14	A
	30	16	16	13	15
	45	16	17	14	14
Eritema	15	C	C	C	C
	30	D	D	A	D
	45	D	D	A	D
Curación completa de la herida	15	15-17	15-17	12-13	12-13
	30	15-17	15-17	12-13	12-13
	45	15-17	15-17	12-13	12-13

M= Moderada, A= Ausente, C= Presencia de costra, D= Definida y L= Leve.

Cuadro II. Muestra los resultados del grosor de la epidermis para los diferentes periodos de evaluación: 15, 30 y 45 días

Tiempo de evaluación	Lote Control (µm)	Lote Furazina (µm)	Lote ALPO + Ca ²⁺ (0.5%) (µm)	Lote ALPO + Ca ²⁺ (1.1%) (µm)
15 días	249.8±63.1	381.2±191.1	338.8±79.7	448.4±98.4
30 días	205.6±78.9	190.2±115.8	143.4±30.2	173.2±37.2
45 días	97.0±23.2	82.0±5.6	115.4±25.9	138.8±36.5

Cuadro III. Muestra el grosor del estrato córneo, en todos los animales experimentales el estrato córneo mostró una tendencia a decrecer

Tiempo de evaluación	Lote Control (µm)	Lote Furazina (µm)	Lote ALPO + Ca ²⁺ (0.5%) set (µm)	Lote ALPO + Ca ²⁺ (1.1%) set (µm)
15 días	27.6±7.2	27.2±4.3	36.8±4.8	40.4±6.0
30 días	26.0±4.6	19.0±8.3	20.8±7.0	35.2±12.7
45 días	20.2±9.0	16.2±3.3	22.8±6.8	22.4±11.8

decrecer, (Cuadro III). El estrato córneo que presentó el menor grosor fue el correspondiente al grupo tratado con Nitrofurazona mientras que el más grueso fue para las ratas tratadas con el material B. El proceso de cicatrización fue de segunda intención para todos los animales.

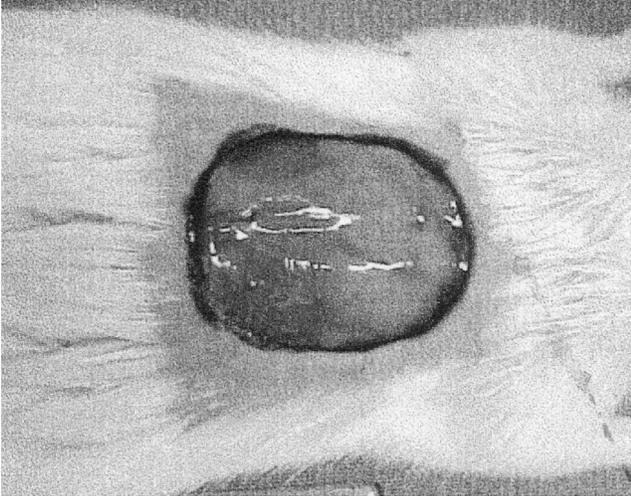


Figura 1. Se muestra la zona de piel del lomo de la rata y la fascia muscular que fueron removidas, lugar donde se administró el tratamiento específico.

Resultados histológicos

En la figura 2 se muestra la cicatrización de la piel de las ratas 15 días después de realizada la cirugía, se marcó el grupo al que pertenecen como: A para el grupo tratado con el material A, B corresponde al tratado con el material B, C al grupo control y D al tratado con Nitrofurazona.

Se observa la migración de las células epiteliales por debajo de la costra aumentando el grosor de la capa epidérmica, la cual se desplaza hacia la zona de daño para culminar el proceso de reepitelización. Este proceso fue más rápido en A, B y C que en D. Por debajo del epitelio en migración y la costra se observa la capa dérmica con gran cantidad de infiltrado celular y capilar formando el tejido de granulación. Los fibroblastos en esta zona se encuentran en una fase de síntesis de colágena para llevar a cabo el proceso de reparación, se observa una vascularización muy marcada en A, B y C, mientras en D se observa una escasa vascularización.

En la figura 3 se muestran las fotografías tomadas a los 30 días de cicatrización. En todas existe una reepitelización completa. En A se observa que el grosor de la capa epidérmica es más gruesa en comparación con la capa epidérmica de los lotes B, C y D. Debajo de la

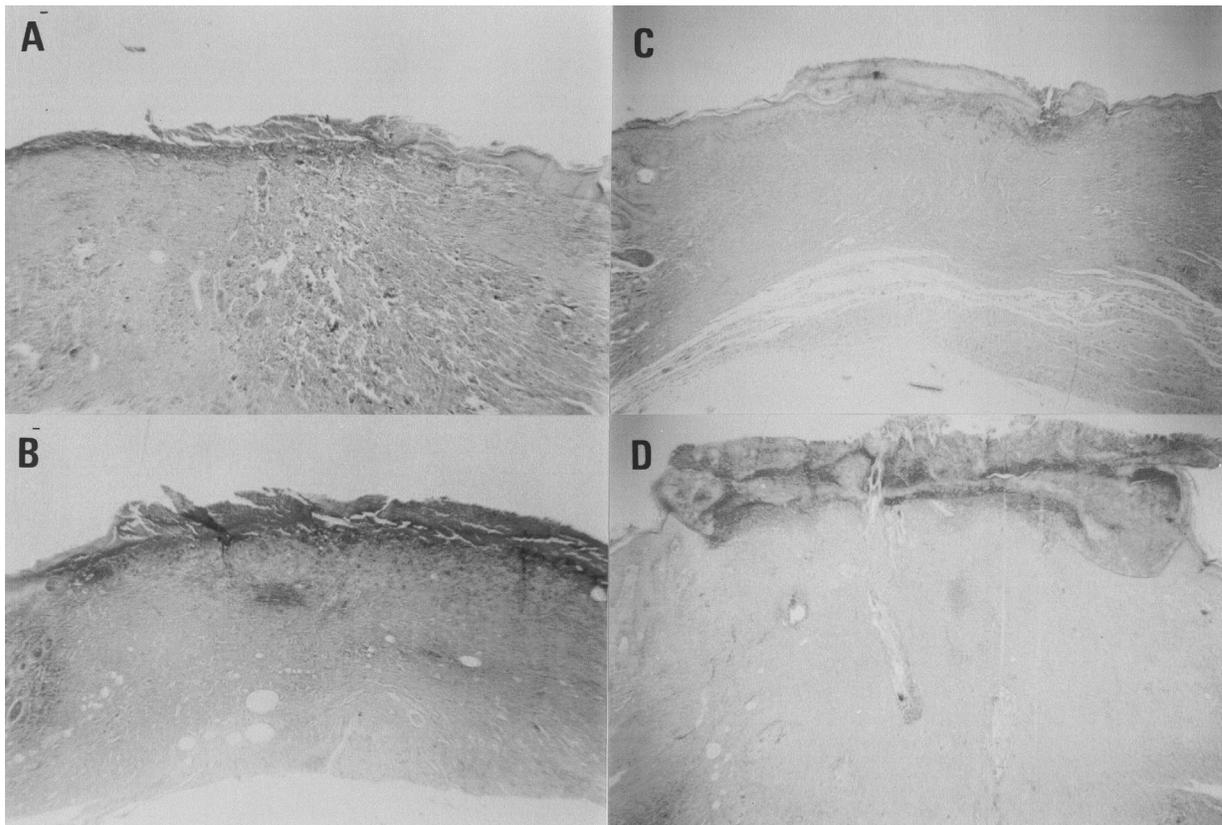


Figura 2. Fotografías del estudio histológico correspondientes a los 15 días de cicatrización. A corresponde a la muestra tratada con el material A, B a la muestra tratada con el material B, C corresponde a la muestra control y D corresponde a la muestra tratada con Nitrofurazona.

epidermis se observa la presencia del tejido de granulación en todos los grupos, aunque fue mayor los 15 días de cicatrización. El área ocupada por el tejido de granulación en C y D es menor que en A y B. En todos los casos hay una gran cantidad de vasos sanguíneos. En A se observa una migración del tejido subcutáneo junto con algunos folículos pilosos.

En la figura 4 se muestran las fotografías tomadas a los 45 días de cicatrización. Para todos los lotes se observa el término del proceso de cicatrización, en C se observa que la parte inferior del epitelio recién formado presenta un desarrollo hacia la profundidad, invadiendo el tejido conectivo subyacente. Con respecto a la capa dérmica, se observa en C y D que la densidad de folículos pilosos es baja, que en su mayoría no tienen la formación del tejido adiposo que conforma el complejo. En A y B la densidad de los folículos pilosos es muy alta y tienen una gran cantidad de glándulas sebáceas. Los folículos sólo se observan en A y B.

En todos los grupos se observa la capa de tejido adiposo, en D hay gran cantidad de fibras de colágena infiltradas. En este grupo esta capa es más delgada que en los otros lotes. En la capa de tejido subcutáneo hay una gran cantidad de folículos pilosos característicos de

esta zona; sin embargo, en A, C, y D no hay presencia de folículos pilosos. Más abajo se observan algunas fibras de tejido laxo junto con algunas fibras de tejido muscular en A, B, y C.

Comportamiento celular

Una vez terminado el proceso de coagulación se presentan los diferentes tipos de leucocitos en secuencia ordenada. Las primeras células que se presentan son los neutrófilos polimorfonucleares (granulocitos) y los monocitos sanguíneos. Los neutrófilos aparecen durante las primeras horas después de producida la herida, éstos migran por quimiotaxis desde el tejido no dañado adyacente al sitio dañado y permanecen en grandes cantidades por dos a tres días aproximadamente, después su número disminuye. La función que desempeñan es la de remover los detritus celulares y los elementos del coágulo.

La gráfica 1 muestra la densidad poblacional de los neutrófilos a los tres diferentes tiempos de cicatrización 15, 30 y 45 días. Para todos los grupos se observa una tendencia en la disminución de neutrófilos conforme aumenta el tiempo de cicatrización. A los 15 días se observa una

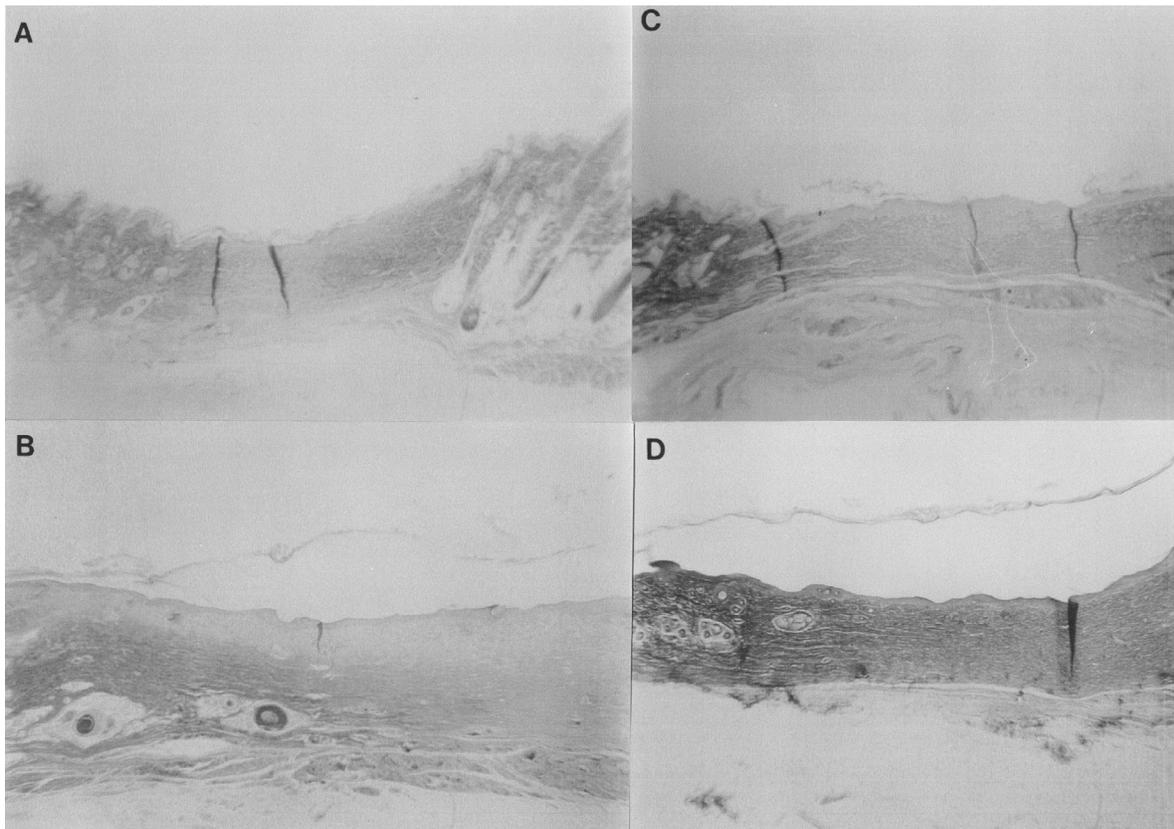


Figura 3. Fotografías del estudio histológico a los 30 días de cicatrización de la herida. A corresponde a la muestra tratada con el material A, B a la muestra tratada con el material B, C corresponde a la muestra control y D corresponde a la muestra tratada con Nitrofurazona.

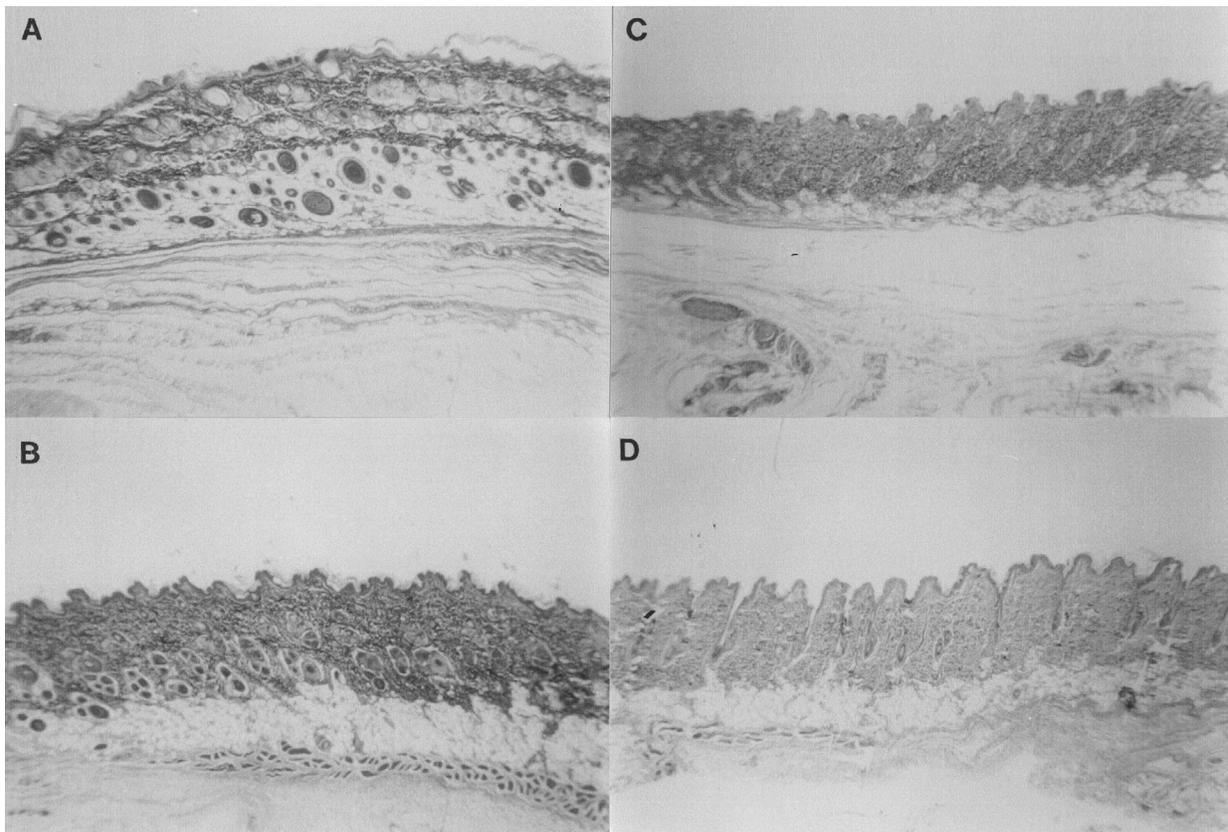


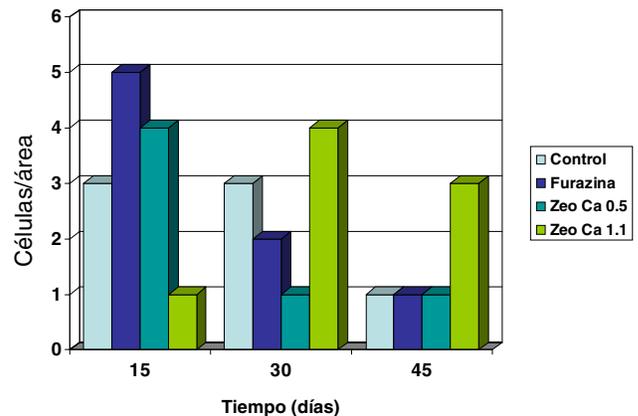
Figura 4. Fotografías del estudio histológico de las muestras correspondientes a los 45 días de cicatrización. A corresponde a la muestra tratada con el material A, B a la muestra tratada con el material B, C corresponde a la muestra control y D corresponde a la muestra tratada con Nitrofurazona.

población de neutrófilos más alta en el grupo tratado con Nitrofurazona, seguido de una población menor en el grupo tratado con el material A, seguida, a su vez, del grupo control. La población muestra una tendencia a la disminución a los 30 y 45 días de cicatrización donde la población celular ya es muy baja. Las medias poblacionales de los lotes en los tres tiempos de cicatrización analizadas mediante ANOVA mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

En la gráfica 2, se observa que a los 15 días de cicatrización para los grupos control, tratado con Nitrofurazona y tratado con el material B, la población de macrófagos no tiene un comportamiento definido conforme avanza el tiempo de cicatrización, sólo el grupo de Nitrofurazona muestra una tendencia a la disminución de esta población celular como ocurre en procesos normales de cicatrización.

En la gráfica 3 se muestra el comportamiento poblacional de los fibroblastos que tienden a disminuir con el tiempo, al aplicar la prueba estadística se encontró que hubo diferencia significativa entre los cuatro grupos.

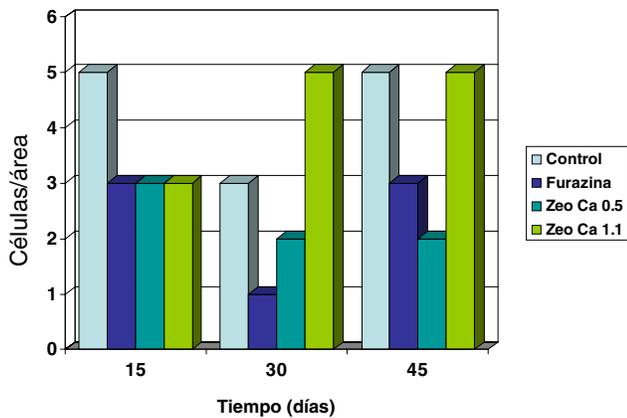
El comportamiento de la población de linfocitos se muestra en la gráfica 4, no fue definido en el tiempo. No se encontró ninguna diferencia significativa entre los distintos tiempos de cada grupo.



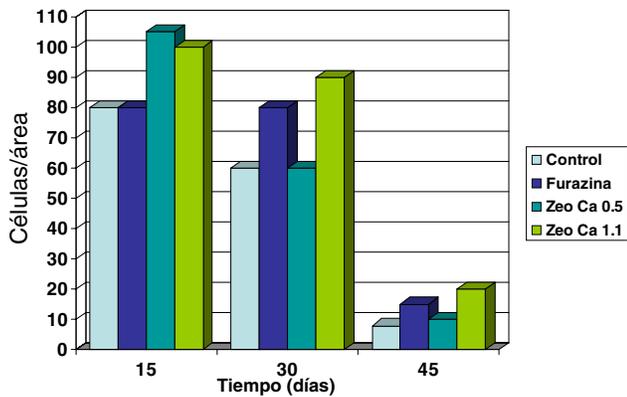
Gráfica 1. Densidad poblacional de neutrófilos a 15, 30 y 45 días de cicatrización.

Conclusiones

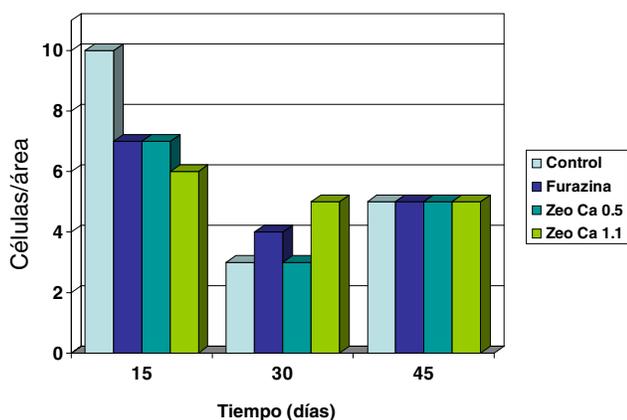
De los resultados mencionados arriba podemos concluir que los materiales probados en este trabajo no causaron toxicidad, intolerancia, infección, una mayor inflamación



Gráfica 2. Densidad poblacional de macrófagos en los diferentes periodos de experimentación.



Gráfica 3. Comportamiento poblacional de los fibroblastos a los 15, 30 y 45 días de experimentación.



Gráfica 4. Densidad de población de linfocitos después de la cirugía, durante los diferentes periodos de prueba.

o algún otro tipo de daño a los animales. Las cerámicas de AlPO obtenidas en el laboratorio, enriquecidas con Zn y Ca(OH)₂ mejoraron la cicatrización de la piel cuando se compararon con Nitrofurazona o con no colocar ningún medicamento. La cicatrización de la piel es más rápida y presenta mejor arreglo de las fibras de colágena cuando se empleó el material A, además de presentarse un crecimiento normal de pelo y una cicatriz menos visible, en comparación con los otros materiales empleados. La cicatrización de la piel fue mejor en segundo lugar, cuando se empleó el material B.

En este trabajo se encontró que el uso de AlPO enriquecido con Zn aceleró el proceso de cicatrización de piel, que al regenerarse se obtiene de mejor calidad, además se encontró que también promovió el crecimiento de pelo.

Agradecimientos: Agradecemos al M. en C. R. Palma, al Fís. R. Reyes, al MVZ B. León, a la Q. I. Naufal, y al Biol. B. López por su apoyo técnico en este trabajo. Esta investigación fue financiada por la UNAM y por el CONACyT.

Referencias

1. Banks. JW. Histología veterinaria aplicada. México: Ed Manual; 1996.p. 750.
2. Morgan RJ, Martin LY. Bioengineered skin substitutes. Sc & Med. 1997;8:10-15.
3. Mustoe AT, Pierce FG, Thomason A, Gramates P, Sporn BM, Devel FT. Accelerated healing of incisional wound in rats induced by transforming growth factor-β. Science 1987;237:1333-1335.
4. Ashcroft GS, Horan MA, Ferguson MWJ. The effects of ageing on cutaneous wound healing in mammals. J Anat 1995;187:1-26.
5. Ksander GA, Steven AM, Sawamura SJ, Ogawa Y, Sundsmo J, Mcpherson JM. The effect of platelet release on wound healing in animal models. J Am Acad Dermatol 1990;22:781-791.
6. Bhartiya D, Sklarsh JW, Maheshwari RK. Enhanced wound healing in animal models by interferon and an interferon inducer. J Cell Physiol 1992;150:312-319.
7. Brown RL, Breeden MP, Greenhalgh DG. PDGF and TGF-α synergistically to improve wound healing in the genetically diabetic mouse. J Surg Res 1994;56:562-570.
8. Hansson A. Extracellular zinc ions induces mitogen-activated protein kinase activity and protein tyrosine phosphorylation in bombesin-sensitive Swiss 3T3 fibroblast. Arch Biochem Biophys 1996;328:233-238.
9. Unemori EN, Ehsani N, Wang M, Lee S, McGuire J, Amento EP. Interleukin-1 and transforming growth factor-α: synergistic stimulation of metalloproteinases, PGE2, and proliferation in human fibroblast. Exp Cell Res 1994;210:166-171.
10. González G, Piña C, Jacas A, Hernández M, Leyva A. Synthesis and characterization of metal aluminophosphate molecular sieve with CHA structure type. Micropor Mesopor Materials 1998;25:103-108.
11. Lansdown, ABG. Zinc in the healing wound. Lancet. 1996;347:706-707.
12. Hanssen A. Extracellular zinc ions induces mitogen-activated protein kinase activity and protein tyrosine phosphorylation in bombesin-sensitive Swiss 3T3 fibroblast. Arch Biochem Biophys. 1996;328:233-238.
13. McLaren S. Nutrition and wound healing. J Wound Care 1991;1:29.
14. Tejada Cruz A. Zeolitas AlPO enriquecidas con Zn y Ca. Obtención y caracterización. Tesis. México; UNAM. Facultad de Ciencias; 1999.
15. American Society for Testing and Material (ASTM). Practice for Testing Biomaterials in Rabbits for primary skin irritation, Philadelphia, PA, USA: 1991;13:01, F-719.
16. American Society for Testing and Material (ASTM). Practice for Testing Guinea Pigs for contact Allergens: Guinea Pig Maximization test, Philadelphia, PA, USA: 1991;13:01, I-720.