

# REPARACIÓN DE HERIDAS DE PIEL Y MUCOSAS

ERIKA LILIANA KURZER G. (1), ALBERTO KURZER S. (2)

RESUMEN: KURZER G. ERIKA L. y ALBERTO KURZER S. Reparación de heridas de piel y mucosas. Rev Fac Odont Univ Ant, 11(1): 5-14, 1999

*La capacidad de cicatrizar mediante la formación de tejido fibroso es vital para la supervivencia de todas las especies animales superiores. Las heridas pueden poner en peligro la vida, alterar el funcionamiento y comprometer la apariencia del individuo. Durante los últimos años ha aumentado el interés por conocer los aspectos fisiológicos básicos del proceso reparativo y las relaciones que presentan entre sí. El cirujano y el odontólogo, más que cualquier otro profesional del área de la salud, deben conocer estos fenómenos si quieren tratar adecuadamente a sus pacientes. Este artículo actualiza los conceptos sobre los siguientes temas: la hemostasia, la inflamación, la migración y la multiplicación de células mesenquimatosas, la revascularización, la epitelización, la contracción, la fibroplasia, la colagenólisis y la remodelación. Todas estas etapas están influenciadas por las citocinas y otras sustancias mediadoras de las funciones celulares.*

**Palabras claves:** Cicatrización, inflamación, epitelización, colágeno, contracción, colagenólisis, remodelación.

**ABSTRACT:** KURZER G. ERIKA L. y ALBERTO KURZER S. Healing of skin and mucous membrane wounds. Rev Fac Odont Univ Ant, 11(1): 5-14, 1999

*The ability to heal wounds by forming scar tissue is essential for the survival of all higher species. Wounds can be life threatening, commonly affect functional ability, and virtually always compromise appearance. Over the past years there has been renewed interest in the basic components of the wound healing process and how the different steps interact with each other. Surgeons and dentists, perhaps more than any other member of the health team, should have an in-depth knowledge of this processes if he or she is to wisely treat his or her patients. This article updates present knowledge of the mechanisms involved in tissue repair, such as: hemostasis, inflammation, mesenchymal cell migration and proliferation, revascularization, epithelialization, contraction, collagen production and lysis and remodeling. This various functions involved in the healing process are all orchestrated by cytokines and other mediators of cellular function.*

**Key words:** Wound healing, inflammation, epithelialization, collagen contraction, collagen degradation, remodeling.

## GENERALIDADES

La cicatrización de las heridas de la piel y las mucosas depende de una combinación de dos procesos: reparación y regeneración tisular. El primero se observa siempre que se lesiona la dermis y genera una cicatriz, mientras que el segundo es el responsable de reconstruir la superficie cuando se produce una lesión que sólo compromete el epitelio y no deja secuelas visibles. La aparición final de una cicatriz se debe al reemplazo de la dermis por un tejido fibroso constituido fundamentalmente por colágeno con características físicas y químicas diferentes al normal.

Las distintas fases reparativas están controladas por las citocinas, proteínas que influyen algunas actividades fisiológicas, uniéndose a receptores específicos que están presentes en la membrana celular. Las más conocidas son: el factor de crecimiento plaquetario (PDGF), los factores de crecimiento transformante alfa y beta (TGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), los factores de

crecimiento fibroblástico ácido y básico (a-FGF y b-FGF), el factor de necrosis tumoral (TNF), la interleuquina-1 (IL-1) y un factor de crecimiento similar a la insulina (IGF). Aunque los nombres no lo indican, estas son sustancias multifuncionales que pueden ser producidas por varias clases de células.

Las citocinas actúan de manera endocrina, paracrina, autocrina o intracrina. En el primer caso, se difunden por vía sanguínea y ejercen su acción sobre células diana situadas en zonas alejadas del área donde se originó la proteína; en el segundo, se afectan células locales pero de clase diferente a las productoras; en el tercero, la misma célula fabricante es manipulada; y en el último caso, la citocina no sale de la célula. Se habla de acción yuxtacrina, cuando la sustancia permanece unida a la membrana de la célula sintetizadora y altera el funcionamiento de otras por contacto directo. Un factor puede actuar de una manera sobre un conglomerado de células y de un modo diferente sobre otros grupos (1,2).

(1) Odontólogo, Facultad de Odontología, Instituto de Ciencias de la Salud, CES.

(2) Profesor Titular, Sección de Cirugía Plástica, Maxilofacial y de la Mano; Facultad de Medicina; Universidad de Antioquia.

Los factores de crecimiento intervienen en la cicatrización de varias formas (1):

- A) Ejercen una acción quimiotáctica que les permite atraer células inflamatorias y fibroblastos.
- B) Estimulan las mitosis.
- C) Favorecen la angiogénesis.
- D) Afectan la producción y la degradación de la matriz extracelular.
- E) Influencian la síntesis de otras citocinas, por células vecinas.

Para facilitar la presentación del tema es conveniente dividir la cicatrización en cuatro fases: temprana, intermedia, tardía y final. La primera agrupa la hemostasia y la inflamación; la segunda, la epitelización, la angiogénesis o neovascularización, y la migración y la multiplicación de células mesenquimatosas; la tercera, la contracción, y la síntesis de colágeno y de otras proteínas que componen la matriz extracelular; y la última, la colagenólisis y la remodelación o maduración.

## FASE TEMPRANA

### Hemostasia

Inicialmente, en las heridas se observa una vasoconstricción capilar local transitoria, mediada por la epinefrina circulante, la norepinefrina liberada por el sistema nervioso simpático y las prostaglandinas sintetizadas localmente. Al disminuir el calibre de los vasos sanguíneos lesionados se facilita la hemostasia y se permite la adherencia de leucocitos, eritrocitos y plaquetas al endotelio. Al comienzo el tapón que ocluye los capilares heridos sólo contiene trombocitos y algunos hematíes por lo que puede disolverse muy fácilmente; pero después de algunos minutos estas células quedan rodeadas por fibrina y el coágulo adquiere mayor estabilidad. La fibrina aparece como producto final de las fases intrínseca y extrínseca de la coagulación; la primera se inicia con la activación del factor XII circulante, cuando la sangre entra en contacto con superficies "extrañas"; y la segunda empieza cuando hay exposición a un factor tisular que abunda en la superficie de las células localizadas por fuera de la luz de los vasos sanguíneos, especialmente en los fibroblastos de la adventicia, y que atrae y se une a los factores VII o VIIa (3).

La fibrina es el principal componente de la matriz provisional que se deposita en la herida y rápidamente es recubierta por vitronectina sérica y por fibronectina. Esta última procede del suero y de los agregados plaquetarios, posteriormente es producida por los fibroblastos y los queratinocitos (4). La fibronectina es responsable de la adhesión

celular y facilita la migración de células inflamatorias y mesenquimatosas; además, el compuesto fibrina-fibronectina sirve de reservorio de citocinas que juegan un papel importante en otras fases reparativas (5).

La acumulación local de trombina, a partir del proceso de la coagulación, estimula un aumento de la permeabilidad vascular y facilita la movilización extravascular de algunas de las células responsables de la respuesta inflamatoria (6).

La lesión en los vasos sanguíneos locales permite la salida de plaquetas que, al entrar en contacto con fibras de colágeno extravascular, forman agregados que liberan el contenido de sus gránulos, rico en sustancias que amplifican la agregación, inician la cascada de la coagulación o actúan como quimiotácticos para atraer otras células. Entre estas sustancias es importante mencionar el PDGF, el TGF alfa y beta, el b-FGF, el factor plaquetario de crecimiento epidérmico (PDEGF) y el factor plaquetario de crecimiento endotelial (PDECGF), porque intervienen en el proceso reparativo (2). La ausencia de estos mediadores explica los trastornos cicatrizales que pueden presentarse en pacientes trombocitopénicos (7).

Los mecanismos hemostáticos están limitados al área lesionada porque las células endoteliales normales producen prostaciclina que inhibe la agregación plaquetaria (8). Además, en los tejidos ílesos la antitrombina III neutraliza y limita la acción de la trombina, y la proteína C destruye los factores V y VII de la coagulación (9).

### Inflamación

La solución de continuidad en la superficie corporal favorece la penetración de cuerpos extraños y bacterias. La inflamación es una reacción vascular y celular inespecífica, que se produce con cualquier trauma y que sirve para destruir algunos microorganismos contaminantes y el material foráneo y necrótico, preparando la herida para su reparación posterior. Esta fase, que se inicia en las primeras seis horas después del trauma, influencia todo el proceso reparativo.

La vasoconstricción inicial, ya mencionada, dura entre diez y quince minutos. La liberación de enzimas intracelulares cambia rápidamente la respuesta vascular y, concomitantemente con la vasodilatación, se empieza a observar una separación de las células endoteliales, lo que permite la extravasación de líquidos y proteínas. El aumento de diámetro de los capilares se debe a la acción de la histamina, de diferentes cininas y prostaglandinas y, probablemente, de algunos leucotrienos y de otros productos elaborados por el endotelio; las "brechas" celulares se deben a la

histamina, a algunas prostaglandinas, a los factores  $C_{3a}$  y  $C_{5a}$  derivados del complemento, a algunas sustancias fabricadas por los neutrófilos, y a la trombina producida durante la cascada de la coagulación (10).

La célula fundamental en este período es el mastocito que, además de sintetizar histamina, elabora leucotrienos  $C_4$  y  $D_4$  que favorecen la vasodilatación, y libera heparina, algunos metabolitos de las prostaglandinas y un péptido similar al TNF (2).

Posteriormente entra en acción el sistema calicreína-kinina que se origina en la activación del factor Hageman sanguíneo por la presencia en la circulación de fragmentos del colágeno destruido o por la acumulación local de enzimas lisosomales y de metabolitos del oxígeno que escapan de los fagocitos (11).

El trauma también estimula la fosfolipasa de las membranas celulares para que hidrolicen los fosfolípidos de la pared, formando ácido araquidónico que, en presencia del complemento, es transformado en prostaglandinas - especialmente  $PGE_1$  y  $PGE_2$  - y algunos leucotrienos que empiezan a actuar entre una y dos horas después de la lesión y se encargan de prolongar durante varios días las alteraciones vasculares (2).

Los neutrófilos migran activamente a través del endotelio, gracias a las colagenasas y las elastasas que producen y se dirigen a la herida, en donde cumplen la importante función de fagocitar bacterias, tejidos desvitalizados y algunos cuerpos extraños. Estos son atraídos por diferentes sustancias quimiotácticas, tales como: algunos productos bacterianos y factores derivados del complemento, la histamina, la  $PGE_2$ , los leucotrienos, el PDGF, el TNF-alfa, los fibrinopéptidos liberados por la acción de la trombina sobre el fibrinógeno, el factor de activación plaquetario elaborado por las células endoteliales y los fagocitos activados, y el factor plaquetario-4. Los dos últimos favorecen, además, la diapédesis ya que estimulan la síntesis de algunas integrinas de superficie que facilitan la adherencia inicial de los leucocitos al endotelio, como paso previo a su migración (2).

Los polimorfonucleares neutrófilos digieren el material fagocitado mediante enzimas hidrolíticas y radicales oxigenados presentes en su citoplasma; posteriormente mueren y son destruidos por los macrófagos, quedando libres algunas proteasas que ayudan a licuar el tejido necrótico. Cuando esta reacción es demasiado intensa se puede formar pus, a pesar de que no exista infección (12). Durante mucho tiempo se pensó que los leucocitos no eran importantes para la reparación de heridas limpias pero recientemente se demostró que producen algunas citocinas proinflamatorias que ayudan a

activar, inicialmente, los fibroblastos y los queratinocitos cercanos (13). De todos modos, no parecen ser necesarios para las fases reparativas posteriores, a no ser que surjan complicaciones sépticas (2).

Los mononucleares son poco frecuentes durante el período agudo debido a que se encuentran en menor número en la circulación, pero como son más resistentes y su vida media es mayor que la del neutrófilo, predominan en la herida después del quinto día y, en las inflamaciones crónicas, se pueden transformar en histiocitos y células multinucleadas gigantes que atraen fibroblastos y forman un granuloma (12). Los monocitos migran y se convierten en macrófagos gracias a la acción de la fibronectina y de otros factores séricos; son atraídos al área lesionada por diferentes factores quimiotácticos, tales como: fragmentos de colágeno, fibronectina y elastina; algunos derivados del complemento; la trombina activada; y el TGF-beta (14). Una vez localizados en la región traumatizada, se unen a componentes de la matriz extracelular mediante receptores de integrinas y se activan por estímulos virales y bacterianos, por la acción de la interleuquina-2 (IL-2) y del interferón sigma elaborados por los linfocitos T, y por el efecto del PDGF (2).

Los macrófagos son indispensables para una buena cicatrización ya que favorecen la actividad de las enzimas lisosómicas y secretan elastasa y colagenasa, necesarias para destruir el tejido desvitalizado; elaboran complemento, tromboplastina y prostaglandinas; influyen en la multiplicación y la migración de los fibroblastos y la síntesis de colágeno; facilitan la colagenólisis; y secretan monoquinas - especialmente IL-1, TNF-alfa, caquetina, PDGF, IGF-1, factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y TGF alfa y beta, - que poseen efecto quimiotáctico (14). La última citocina actúa de manera autocrina y estimula la secreción de FGF, IL-1, PDGF y TNF (2).

En el pasado se pensó que los linfocitos no eran importantes para la reparación tisular, sin embargo, se ha comprobado que los de la serie T producen numerosas monoquinas y linfoquinas, interferón gama y TGF-beta que regulan el crecimiento y la función de los fibroblastos y de las células endoteliales; de tal manera que su disminución antes y hasta una semana después de producida una lesión, se asocia con alteraciones en la síntesis y en el depósito de colágeno. Los linfocitos son atraídos por la IL-2 y por otros factores quimiotácticos (15).

Este período se caracteriza por calor, rubor, tumor y dolor. Los dos primeros signos se relacionan con la apertura de los capilares locales; el tercero se produce por la extravasación de líquidos y proteínas; y el

dolor se debe al cambio del pH por la destrucción de los tejidos y la proliferación bacteriana, y a la disminución de la concentración de oxígeno como consecuencia de las alteraciones vasculares; también contribuye el aumento de la presión intersticial secundario a la acumulación de edema. La inflamación es favorecida por la isquemia y la presencia de material necrótico, bacterias y coágulos y puede disminuirse por medio de técnicas atraumáticas, hemostasia meticulosa, asepsia adecuada y no estrangulando los tejidos con las suturas. La elevación de la región afectada reduce la presión hidrostática de los capilares y retarda el escape de líquidos circulantes, tanto como el hielo que produce vasoconstricción.

El cierre de la herida en la primera hora después del trauma acorta la reacción inflamatoria; si aquella se deja abierta más de tres horas, se incrementa la permeabilidad vascular y se forma una capa exudativa gruesa en la superficie y en la periferia que protege a los microorganismos patógenos de la acción de los antibióticos (16).

Los corticoesteroides, especialmente el cortisol, aumentan la resistencia de la membrana lisosómica de los neutrófilos, retardando la liberación de enzimas proteolíticas y la aparición de la inflamación; sin embargo, poseen efectos perjudiciales para las demás fases de la cicatrización.

En la mayor parte de las heridas no contaminadas la inflamación desaparece entre tres y cinco días después del trauma. A la resolución del proceso contribuye el eosinófilo, célula que fagocita leucotrienos, complejos inmunes y cininas y que produce histaminasa, fosfolipasa y prostaglandinas con acción contraria a las que iniciaron la inflamación. Este es atraído por la histamina y un factor quimiotáctico liberado por los mastocitos y los basófilos. La fibronectina también cumple una importante función, promoviendo la formación de matriz tisular; su acción es reforzada por la heparina (11).

Aunque la fase inflamatoria aguda es absolutamente indispensable para la reparación, su persistencia puede ser perjudicial. Algunas sustancias derivadas del complemento y los radicales peróxido liberados por los neutrófilos muertos, contribuyen a formar un complejo citotóxico que ataca las membranas celulares y contribuye al daño tisular progresivo que se observa en las quemaduras profundas y en la inflamación crónica asociada a la presencia de cuerpos extraños o infecciones (2).

## FASE INTERMEDIA

Este período incluye la quimiotaxia y la multiplicación de células derivadas del mesénquima, la angiogénesis o neovascularización, y la epitelización.

Estos procesos también son mediados por diferentes citocinas y predominan entre dos y cuatro días después del trauma.

## Migración y multiplicación de células mesenquimatosas

Los fibroblastos aparecen en la herida de dos maneras: por desplazamiento desde los tejidos aledaños ílesos, atraídos por citocinas elaboradas por las células inflamatorias y por otros factores que quedaron atrapados en la matriz de fibrina, fibronectina y vitronectina que se acumuló durante el período de la coagulación; o por diferenciación de células inmaduras locales, gracias al estímulo de sustancias producidas por los macrófagos activados. Los fibroblastos, además, liberan citocinas que atraen a otros fibroblastos (17).

La migración es dirigida por la fibronectina que recubre los filamentos de fibrina depositados durante las fases iniciales, lo cual explica la asociación de los hematomas con una fibroplasia exagerada. Los fibroblastos se unen a estas sustancias mediante receptores de la familia de las integrinas (18). El movimiento celular se facilita por la presencia de grandes cantidades de ácido hialurónico en la matriz extracelular (2).

El PDGF ejerce acción quimiotáctica sobre las células musculares lisas y los fibroblastos; además, regula el funcionamiento de los receptores de integrina en estos últimos (19, 20). Igual atracción es ejercida por el TGF-beta, el EGF, la fibronectina, algunas linfoquinas, y ciertos péptidos derivados del colágeno (2). Para que se produzca la migración es necesaria la presencia de algunas enzimas proteolíticas que ayudan a abrir el paso a través de la red de fibrina, tales como: la metaloproteinasa matricial 1 (MMP-1), la gelatinasa (MMP-2), y la estromelisin (MMP-3). Estas sustancias también juegan un papel importante en la fase de remodelación, por lo que serán discutidas posteriormente. El TGF-beta estimula a los fibroblastos para que secreten enzimas proteolíticas (2).

La concentración de células mesenquimatosas en la herida se incrementa, aún más, gracias a la multiplicación de los fibroblastos locales. Las mitosis son estimuladas por el TGF-beta, el TNF, la IL-1, el EGF, el PDGF, algunas linfoquinas y la insulina (21, 22). Aunque muchas de estas citocinas son producidas por las células inflamatorias, los fibroblastos también son capaces de sintetizarlas. Se han identificado, además, varios IGF que actúan como cofactores que potencian la acción del PDGF (23).

## Neovascularización o angiogénesis

La reconstrucción vascular y la formación de nuevos vasos sanguíneos es uno de los aspectos reparativos menos apreciados. La angiogénesis es

responsable de la producción de un buen tejido de granulación y de la recanalización de los plexos capilares, ayudando así a suplir las grandes necesidades metabólicas locales. Los altos niveles de lactato, el pH ácido y la disminución de la tensión de oxígeno en el área lesionada, estimulan este fenómeno. Inicialmente aparecen unas pequeñas yemas en las paredes de las vénulas, localizadas en la periferia de la herida, las que posteriormente crecen gracias a la proliferación de células endoteliales (24). Los capilares neoformados aumentan progresivamente de tamaño hasta que entran en contacto con otros vasos sanguíneos (25).

En laceraciones suturadas adecuadamente, es posible que la fibrinolisisina contenida en el endotelio de los vasos trombosados, ayude a abrir paso entre la fibrina que une los bordes, creando un sendero para el desplazamiento de las células endoteliales que adquieren pseudópodos (26). Este movimiento es favorecido por la fibronectina, las colagenasas y las integrinas que ellas mismas elaboran (2). Igualmente, los macrófagos estimulados por las altas concentraciones de ácido láctico, la disminución de la presión parcial de oxígeno ( $pO_2$ ) en los tejidos y algunas aminas biogénicas, liberan citocinas que facilitan la migración y la proliferación endotelial (27). Entre estas citocinas podemos mencionar el TGF alfa y beta, el EGF, el TNF-alfa, el PDECGF, la angiogenina, la interleuquina-8, y el b-FGF (2). Este último es el factor angiogénico más potente de todos los identificados hasta el momento (28). También se ha demostrado que ejercen influencia algunas prostaglandinas y los lípidos provenientes de los adipocitos (29). La concentración de todas estas sustancias disminuye cuando la región herida queda completamente revascularizada.

La disminución en la concentración local de histamina, la protamina, la radioterapia, algunos citostáticos y los corticoesteroides frenan la neovascularización, mientras que la progesterona y la heparina la favorecen (30). Esta última es un cofactor importante para que actúe el b-FGF (31). Algunos antisépticos locales como la clorhexidina, la cloramina, el yodo-povidona y el nitrato de plata frenan la producción de tejido de granulación (32).

## Epitelización

Las capas externas de la piel están expuestas a un traumatismo mínimo constante que las obliga a regenerarse; la respuesta a las lesiones epiteliales no es más que una exageración de este fenómeno normal. La secuencia de eventos incluye: la separación, la migración, la multiplicación y la diferenciación celulares y empieza a observarse pocas horas después de producida la lesión, en el epitelio de los bordes y de las glándulas anexas

cercanas. Inicialmente los restos tisulares, junto con el exudado de fibrina y leucocitos, forman un coágulo, que por deshidratación se convierte en costra, por debajo del cual ocurre la epitelización. En una distancia aproximada de dos milímetros alrededor de la herida las células basales se alargan, aflojan las uniones desmosómicas que las adhiere a la dermis y adquieren filamentos de actina que contribuyen al desplazamiento. Poco a poco se forma una capa monocelular que empieza a cubrir el área destapada, de los bordes hacia el centro (26). El estímulo para este movimiento epitelial es desconocido, aunque en cultivos celulares se ha observado que guarda cierta relación con bajos niveles de calcio o altas concentraciones de magnesio (33).

Si la membrana basal está intacta, los queratinocitos se desplazan sobre ella y, a medida que esto ocurre, se va depositando fibronectina; si no lo está, el movimiento se produce sobre una matriz provisional constituida por fibrina, fibronectina, vitronectina, tenascina y colágeno tipo I y V (2). Las mismas células epiteliales adicionan algunos de estos elementos, si están ausentes. Inicialmente no se encuentra laminina ni colágeno tipo IV, que son importantes para la adhesión dermo-epidérmica (34).

Las mitosis alcanzan su máximo alrededor del tercer día, mucho tiempo después de haberse iniciado la migración, y predominan en las áreas periféricas, creando un exceso lateral de células que empuja las del borde y las obliga a moverse, por debajo de la costra. Si un queratinocito se encuentra con otro idéntico cambia la dirección de su movimiento, pero no queda en reposo hasta que está rodeado de similares por todos los lados, fenómeno conocido como inhibición por contacto (26). Éste parece deberse a la estimulación de receptores en la membrana celular por la fibronectina que recubre la superficie (35). Sólo después de que el área cuenta queda totalmente cubierta por una capa epitelial unicelular, empieza a regenerarse la membrana basal y reaparecen los hemidesmosomas que fijan las células basales a ella; al mismo tiempo, comienza el proceso de estratificación y, más tardíamente, el de queratinización (2).

Los queratinocitos del borde de la herida segregan metaloproteinasas que ayudan a separar la escara, permitiendo la migración epitelial por debajo de ella (36). También contribuyen a este desplazamiento algunos activadores que convierten el plasminógeno del coágulo, depositado inicialmente, en plasmina que es una potente enzima fibrinolítica. La secreción de todas estas sustancias desaparece al producirse la inhibición por contacto (2).

El tiempo necesario para completar el cierre

epitelial es menor cuando la lesión dejó intacta la membrana basal y, en heridas incisionales, depende de la técnica de sutura: Cuando se obtiene una ligera eversión de los bordes, tarda entre 18 y 24 horas; si la aproximación es horizontal, hay un retardo de doce horas y si se produce inversión, puede demorarse tres días (16).

El choque hipovolémico y otras situaciones de estrés interfieren con la epitelización, probablemente por la vasoconstricción asociada a la liberación de catecolaminas. Los vendajes húmedos, la interleuquina-1, el calcio y la vitamina A sistémica o tópica la aceleran; mientras que el agua oxigenada sin diluir, los detergentes, el yodopovidona y los antisépticos poseen efectos citotóxicos o alteran las defensas locales, por lo que pueden retardarla (26). Múltiples citocinas también modulan la migración y la multiplicación epitelial; ambos procesos son estimulados por el EGF y el TGF-alfa; el IGF y algunos factores de la familia del FGF potencian las mitosis, mientras que el TGF-beta favorece el desplazamiento pero inhibe la proliferación (2). Todas estas proteínas son sintetizadas por las células inflamatorias, las mesenquimatosas locales y las epiteliales. Estudios experimentales en animales y clínicos en humanos, han demostrado la utilidad del EGF tópico para el tratamiento de áreas donantes de injertos y de quemaduras de espesor parcial (37).

El empleo de vendajes oclusivos o semioclusivos durante las primeras 24 horas promueve la regeneración epitelial —de un 30 a un 45% más rápida— probablemente por evitar la desecación, aunque también es posible que faciliten la migración, aumenten la presión parcial de oxígeno o la temperatura local, incrementen la concentración de factores de crecimiento o mantengan un potencial eléctrico favorable entre la piel y el medio ambiente (38). Las heridas expuestas obligan a las células epidérmicas a profundizarse buscando tejido viable.

Inclusive, después de mucho tiempo, el epitelio regenerado no es igual al normal; es más delgado, posee menos células basales y la unión dermo-epidérmica es aplanada, sin papilas.

## FASE TARDÍA

### Fibroplasia

Se refiere al proceso de producción de colágeno y al aumento de la fuerza tensil de la cicatriz. Los fibroblastos y, en menor grado, las células musculares, endoteliales y epiteliales, son los encargados de sintetizar las sustancias necesarias para la reparación cutánea (39). Los primeros se originan en fibrocitos y células mesenquimatosas perivasculares y aparecen entre el tercero y quinto

días después del trauma, atraídos por sustancias que producen los macrófagos activados, por ciertas linfoquinas y por algunos metabolitos de la degradación del colágeno lesionado, siendo su proliferación favorecida por el depósito local de histamina. Es posible que algunas de las prostaglandinas también posean poder quimiotáctico (16).

A medida que los macrófagos desbridan la herida, liberan factores químicos que atraen a los fibroblastos. Esta acción es potenciada por la trombina y los activadores del plasminógeno del suero (30). La migración es dirigida por la fibronectina que recubre los filamentos de fibrina, depositados durante la fase inicial de la coagulación, por lo que los hematomas se asocian con una fibroplasia exagerada. La actividad celular también es influenciada por múltiples factores séricos y plaquetarios que podrían actuar aisladamente o en conjunto, como un mecanismo de cascada (26).

Los fibroblastos requieren la cercanía de capilares, a menos de 50 micras de distancia, para asegurar un buen suplemento de oxígeno y, por mecanismos aún no esclarecidos, estimulan la neoformación de vasos sanguíneos, cuyo endotelio contiene activadores del plasminógeno que se encargan de destruir la fibrina depositada, evitando la llegada de nuevas células a un área que se está reparando adecuadamente (30).

La elaboración de colágeno se paraliza si el (pO<sub>2</sub>) local cae por debajo de 20 milímetros de mercurio (40). Se desconoce el estímulo para iniciar la producción proteica pero existen evidencias de un factor extracelular difusivo que bloquea una sustancia represora que normalmente existe en los tejidos. El proceso bioquímico es complejo y consta de aproximadamente 220 reacciones que requieren, además de los aminoácidos necesarios para ensamblar la molécula, de enzimas y cofactores, como: el oxígeno, el hierro, el ácido ascórbico y el alfa-cetoglutarato (41). El fibroblasto termina excretando activamente un monómero denominado procolágeno, paso que puede ser inhibido por la vinblastina, la citocalasina B y la colchicina, drogas que taponan los microtúbulos del exocitosqueleto citoplásmico y producen lo que algunos autores denominan "constipación celular" (42).

Para que las moléculas de procolágeno puedan agregarse y formar fibras, deben ser modificadas por algunas proteasas y peptidasas; estas enzimas están ausentes en pacientes con el síndrome de Ehlers-Danlos tipo VII, por lo que pueden presentarse trastornos reparativos (43). El péptido terminal, liberado por acción de estas enzimas, participa en el control de la síntesis de colágeno por un mecanismo de retroalimentación (44). Para obtener una mayor fuerza tensil es necesaria la formación de puentes inter e intramoleculares y

existen dos entidades clínicas caracterizadas por interferencia con este proceso: personas con el síndrome de Ehlers-Danlos tipo V, carecen de la enzima lisil-oxidasa, por lo que su colágeno es débil, son frecuentes las hernias y las insuficiencias en las válvulas cardíacas, fácilmente se producen equimosis y las heridas cicatrizan como "papel de cigarrillo"; en el tipo VI no existe lisil-hidroxilasa, lo que se manifiesta por escoliosis severa, hiperextensibilidad cutánea, luxaciones articulares recurrentes y equimosis espontáneas (43).

La síntesis de colágeno aumenta rápidamente durante los primeros días y continúa a pasos acelerados durante dos a cuatro semanas; empieza a declinar después de un mes, momento a partir del cual se debe obtener un balance entre producción y destrucción. La edad, la tensión, la presión local y el estrés afectan la fibroplasia (2).

El TGF-beta es el más poderoso estimulante conocido, de la síntesis de colágeno y, además, favorece su acumulación ya que disminuye la actividad de las proteasas que lo destruyen. Esta citocina es producida por las células inflamatorias y los fibroblastos. El PDGF, el FGF y el EGF también favorecen la fibroplasia, mientras que los glucocorticoides la inhiben (2).

### Síntesis de otros componentes de la matriz extracelular

Además de colágeno, el tejido conectivo contiene otros componentes como fibronectina, elastina y mucopolisacáridos o proteoglicanos. De este último grupo, los fibroblastos producen condroitín sulfato, dermatán sulfato, heparina, queratán sulfato y ácido hialurónico, sustancias que potencian la acción de algunas citocinas. La heparina, como ya se mencionó, es un cofactor del b-FGF durante la angiogénesis y estimula la proliferación celular (2). El TGF-beta y el b-FGF estimulan la síntesis de proteoglicanos y el PDGF la de ácido hialurónico (45).

La fibronectina juega un papel importante en todas las fases reparativas: en la temprana, recubre las fibras de fibrina y favorece la migración de las células inflamatorias; en la intermedia, facilita el desplazamiento de las células epiteliales y endoteliales; y en la tardía, dirige la llegada de los fibroblastos; además, es un importante componente de la cicatriz madura. El EGF, el b-FGF, el PDGF y el TGF-beta estimulan la síntesis de fibronectina (2).

El ácido hialurónico se acumula en grandes cantidades durante el período reparativo inicial, lo que facilita la movilización celular; disminuye entre 5 y 10 días después del trauma, a medida que se incrementan las cantidades de condroitín-4-sulfato y de dermatán sulfato, lo que ayuda a los tejidos a obtener una mayor fuerza tensil y resiliencia (46).

### Contracción

Entre tres y cinco días después de producida una avulsión, que se deja cerrar por segunda intención, la superficie cruenta empieza a disminuir de tamaño y los márgenes se aproximan hacia el centro. Este desplazamiento tisular centrípeta se denomina contracción y no debe confundirse con contractura, que es la deformidad que puede resultar después de terminada la cicatrización de una herida adyacente a una articulación o un pliegue de flexión (26). El fenómeno se observa únicamente cuando los tejidos cercanos son móviles y pueden estirarse; es más aparente en la espalda, la nuca, las nalgas y el abdomen; es menor en los miembros superiores e inferiores y en la superficie anterior del tórax y no se presenta en lesiones circunferenciales de las extremidades ni cuando existe material necrótico o infección local (47). Es importante tener en cuenta que representa movimiento de los bordes y no formación de tejido nuevo. En la piel avanza con una velocidad entre 0.6 y 0.75 mms. diarios y cesa cuando la herida cierra completamente - inhibición por contacto - o cuando la tensión en la periferia excede a la fuerza centrípeta, lo que generalmente ocurre entre doce y quince días después de iniciado el proceso (47).

Existe desacuerdo con respecto al mecanismo responsable de la contracción, según algunos se debe al movimiento de los fibroblastos a través de la matriz extracelular pero de acuerdo con otros autores, se debe a los miofibroblastos, organismos similares a los primeros pero, que poseen en su citoplasma haces contráctiles de actina y miosina y que se originan a partir de células mesenquimatosas, de mononucleares circulantes o de fibrocitos situados alrededor de la adventicia de vasos sanguíneos locales (26). El TGF-beta facilita esta transformación (48).

Se ha demostrado que los miofibroblastos se adhieren, por un extremo, al borde de la dermis y por el otro, conectan sus elementos citoplásmicos contráctiles con filamentos de fibronectina - fibras de anclaje - que se unen a fragmentos cercanos de colágeno, transmitiendo así la fuerza intracelular y aproximando los márgenes de la herida hacia el centro (49). También se ha postulado que los miofibroblastos no son más que fibroblastos que se alargan al ser sometidos a estrés mecánico (2). Además, es probable que el epitelio contráctil, de los bordes de la herida, contribuya al proceso en los períodos iniciales (50). Una vez terminada la contracción, el colágeno fija los tejidos en su nueva posición.

Puesto que este proceso puede ser perjudicial, se ha buscado la manera de manipularlo. La aplicación tópica de relajantes de la musculatura lisa - papaverina, prostaglandina E<sub>1</sub>, trocinato - lo frena,

pero reaparece al suspender las drogas (51). Las altas dosis de corticoesteroides, la radioterapia y las sustancias antimicrotubulares, como la colchicina, la vinblastina y la citocalasina B, disminuyen el movimiento tisular, pero poseen efectos perjudiciales sobre otras fases de la cicatrización, por lo que no son de utilidad clínica (30). El PDGF, el TGF-beta y el b-FGF estimulan la contracción en heridas experimentales (2).

La colocación inmediata de un injerto de piel de espesor total acelera la desaparición del miofibroblasto, pero la aplicación tardía demora varios días en inhibir su función; los de espesor parcial son de poca utilidad, a no ser que se asocien con férulas durante varias semanas, pero la contracción reaparece y progresa de manera acelerada al retirarlas (52). Durante mucho tiempo se postuló que la presencia de dermis profunda era el factor necesario para evitar la contracción (47), pero la utilización de algunas membranas sintéticas ha demostrado un efecto semejante (53). Es posible que otras propiedades físicas, como la pérdida acuosa a través de la piel, la gradiente de temperatura o los cambios de potenciales eléctricos sean los responsables de la diferente acción de las distintas clases de injertos (54).

El uso prolongado de vendajes con gradiente de presión -aproximadamente 25 milímetros de mercurio- ayuda a controlar parcialmente la deformidad, probablemente induciendo una hipoxia tisular, pero no ejerce efecto directo sobre los miofibroblastos (55).

## FASE FINAL

### Colagenólisis

La cicatrización normal es un proceso balanceado entre producción y destrucción constantes de colágeno. Las colagenasas - producidas por los leucocitos, los macrófagos activados y las células epiteliales en migración - parten la molécula de colágeno, en presencia de calcio y de zinc, dejando dos fragmentos que pueden ser atacados por otras proteasas y peptidasas (30). Estas colagenasas se acumulan en la dermis superficial, el tejido de granulación y alrededor de la herida, por lo que las suturas no deben colocarse muy cerca de los bordes (56). Los esteroides, la hormona paratiroidea, las infecciones, la interleuquina-1 y la colchicina favorecen el proceso; mientras que la cisteína, la progesterona y la alfa-dos-macroglobulina sérica lo inhiben (42, 57). Esta última evita la colagenólisis en tejidos sanos (30).

En la piel denervada y en los injertos de piel en remodelación se observa una actividad exagerada de las colagenasas. Otras entidades clínicas relacionadas con reabsorción excesiva de colágeno

son: las úlceras corneales por quemadura con álcalis, la epidermólisis vesiculosa, el colesteatoma, la enfermedad periodontal crónica, las artritis reumatoidea y psoriática y la sinovitis vellonodular pigmentada (58).

También se ha descubierto un mecanismo intrafibroblástico de degradación proteica que sirve de "control de calidad" ya que permite destruir las moléculas de colágeno defectuosas, antes de ser depositadas en el medio extracelular (59).

### Remodelación o maduración.

Esta es la última y más prolongada fase de la reparación cutánea ya que puede durar entre seis y doce meses. Durante este proceso la cicatriz - inicialmente roja, dura y elevada- palidece, se aplana y se ablanda. El contenido de colágeno aumenta rápidamente durante las primeras semanas y, aproximadamente a los 21 días, se debe obtener un equilibrio entre producción y degradación (26). La síntesis proteica está regulada por un mecanismo en el que intervienen el interferón gamma, la matriz de colágeno y el TNF-alfa (2).

A medida que madura la cicatriz, se van reponiendo fibras y éstas son sometidas a movimiento, presión y otros factores mecánicos que ayudan a orientarlas siguiendo las líneas de tensión de la piel. Con el transcurso del tiempo se observa disminución celular por apoptosis, inicialmente de las células endoteliales y posteriormente de los miofibroblastos y de los fibroblastos (2). Los capilares neoformados se atrofian por acción de los pericitos y las células musculares lisas, por lo que el área palidece (60). En el espacio extracelular decrece la concentración de ácido hialurónico que es reemplazado por sustancias más elásticas, como el condroitin-4-sulfato; se reabsorbe el agua y las fibras se juntan, con lo cual se aplana la región. El colágeno tipo III gradualmente es reemplazado por el I, hasta obtener el promedio normal de 1:4 (26).

No está bien establecido el papel que desempeñan las glucoproteínas y los mucopolisacáridos o proteoglicanos, pero es posible que ayuden a organizar el colágeno y que determinen, según sea el que predomine, el tamaño, la rigidez y otras cualidades físicas de las nuevas moléculas (30). También es probable que las fuerzas que se ejercen sobre los tejidos produzcan cargas eléctricas que faciliten la orientación, especialmente cuando se interdigitan con proteoglicanos (61).

La colagenólisis juega un papel fundamental durante la remodelación ya que elimina las fibras iniciales depositadas de manera desorganizada, facilitando su reemplazo por otras mejor orientadas y más resistentes, ayudando a formar una cicatriz más estable. Se han identificado varias MMPS con

función colagenolítica: la MMP-1 que actúa sobre las moléculas de colágeno tipo I, II, III, X y XIII (62); la MMP-2 que degrada colágeno V y XI y moléculas de los otros tipos que hayan sido previamente desnaturalizadas (63); y la MMP-3 que destruye proteoglicanos y colágeno tipo III, IV, V, VII y IX (64). La actividad de estas enzimas, a su vez, está regulada por varios inhibidores tisulares (TIMP). Probablemente la hialuronidasa, las proteinasas séricas, las catepsinas y las glucosidasas también contribuyen a la remodelación. La actividad de todas estas enzimas y de sus inhibidores está influenciada por algunas citocinas, tales como: el TGF-beta, el PDGF, la IL-1 y el EGF (2).

La remodelación incrementa significativamente la fuerza tensil de la herida, especialmente entre la tercera y la sexta semanas, cuando llega a obtenerse entre el 80% y el 90% de ella (65). De todas maneras, es interesante mencionar que nunca se alcanza la fuerza tensil de la dermis ilesa. El proceso que más contribuye a este aumento es la polimerización de las moléculas de colágeno - formación de puentes inter e intramoleculares -.

Los desequilibrios entre producción y destrucción de colágeno son responsables de una reparación anormal: si predomina la síntesis aparecen cicatrices hipertróficas o queloides, en caso contrario hay una herida crónica que no cicatriza o lo hace muy lentamente.

## CORRESPONDENCIA

Alberto Kurzer Schall  
E-mail: akurzer@quimbaya.udea.edu.co.  
Apartado aéreo 17-28  
Medellín, Colombia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Greenhalgh, D.G. The role of growth factors in wound healing. *J Trauma*, 1996, 41: 159.
- Lawrence, W.T. Physiology of the acute wound. *Clin Plast Surg*, 1998, 25: 321.
- Esmon, C.T. Cell mediated events that control blood coagulation and vascular injury. *Annu Rev Cell Biol*, 1993, 9: 1.
- Hynes, R.O. Fibronectins. *Sci Am*, 1986, 254: 42.
- Wysocki, A.B., Grinnell, F. Fibronectin profiles in normal and chronic wound fluid. *Lab Invest*, 1990, 63: 825.
- Stiernberg, J. et al. The role of thrombin and thrombin receptor activating peptide (TRAP-508) in initiation of tissue repair. *Thromb Haemost*, 1993, 70: 158.
- Knighton, D.R. et al. Role of platelets and fibrin in the healing sequence. An *in vivo* study of angiogenesis and collagen synthesis. *Ann Surg*, 1982, 196: 379.
- Musson, R.A. Human serum induces maturation of human monocytes *in vitro*. *Am J Pathol*, 1983, 111: 331.
- Loedam, J.A. et al. Inactivation of human factor VIII by activated protein C: Cofactor activity of protein S and protective effect of von Willebrand factor. *J Clin Invest*, 1988, 82: 1236.
- Fernandez, H.A. et al. Chemotactic response to human C<sub>3</sub> and C<sub>5</sub>, anaphylatoxins. Evaluation of C<sub>3</sub> and C<sub>5</sub> leukotaxis *in vitro* and under simulated *in vitro* conditions. *J Immunol*, 1978, 120: 109.
- Rojas, W., Cano, L.E. *Inmunología*. 11ª edición, Medellín, Corporación para investigaciones biológicas, 1999, pp 47-66.
- Bryant, W.M. Wound healing. *Clinical Symposia*, 1977, 29: 2.
- Hubner G., Griseldi, S. Differential regulation of proinflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice. *Cytokine*, 1996, 8: 548.
- Diegelmann, R.F., Cohen, I.K., Kaplan, A.M. The role of macrophages in wound repair. A review. *Plast Reconstr Surg*, 1991, 68: 107.
- Robbins, R.A. et al. Interleukin-2 induced chemotaxis of human T-lymphocytes. *J Lab Clin Med*, 1986, 108: 340.
- Edlich, R.F. et al. Biology of wound repair: Its influence on surgical decision. *Facial Plast Surg*, 1984, 1: 169.
- Sporn, M.B., Roberts, A.B. Peptide growth factors and inflammation, tissue repair and cancer. *J Clin Invest*, 1986, 78: 329.
- Hynes, R.O. Integrins: Versatility, modulation and signaling in cell adhesion. *Cell*, 1992, 69: 11.
- Seppa, H. et al. Platelet-derived growth factor is chemoattractant for fibroblasts. *J Cell Biol*, 1982, 92: 584.
- Ahlen, K., Rubin, K. Platelet-derived growth factor-BB stimulates synthesis of the integrin alpha2-subunit in human diploid fibroblasts. *Exp Cell Res*, 1994, 215: 347.
- Assoian, R.K. et al. Cellular transformation by coordinated action of three peptide growth factors from human platelets. *Nature*, 1984, 309: 804.
- Grotendorst, G.R. et al. Molecular mediators of tissue repair. En Hunt, T.K. et al. *Soft and hard tissue repair: Biological and clinical aspects*. Nueva York: Praeger, 1984, pp 20-41.
- Ronning, O.W., Pettersen, E.O. Effect of different growth factors on cell cycle traverse and protein growth of human cells in culture. *Exp Cell Res*, 1985, 157: 29.
- Folkman, J., Klagsbrun, M. Angiogenic factors. *Science*, 1987, 235: 442.
- Clark, R.A.F. et al. Blood vessel fibronectin increase in conjunction with endothelial cell proliferation and capillary ingrowth during wound healing. *J Invest Dermatol*, 1982, 79: 269.
- Kurzer, A. Reparación tisular. En Restrepo, J.: *Cirugía Principios básicos*. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia, 1996, pp. 240-266.
- Jackson, A. et al. Heat shock induces release of FGF1 from NIH 373 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 10691.

28. Gospodarowicz, D., Neufeld, G., Schweigerer, L. Fibroblast growth factor: Structural and biological properties. *J Cell Physiol (Suppl)*, 1987, 5: 15.
29. Castellot, J.J. Jr., Karnovsky, M.J., Spiegelman, B.M. Differentiation-dependent stimulation of neovascularization and endothelial cell chemotaxis by 3T3 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79: 5597.
30. Hunt, T.K., Van Winkle, W. Jr. Normal repair. En Hunt, T.K., Dunphy, J.E. *Fundamentals of wound management*. Nueva York: Appleton-Century-Crofts, 1979, pp. 1-30.
31. Shing, Y., Folkmann, J., Sullivan, R. Heparin affinity: Purification of a tumor-derived capillary endothelial growth factor. *Science*, 1984, 223: 1296.
32. Nidner, R., Schöpf E. Inhibition of wound healing by antiseptics. *Brit. J. Dermatol. (Suppl)*, 1986, 115: 31.
33. Grzesiak, H.H., Piershbacher, M.D. Shifts in concentrations of magnesium and calcium in early porcine and rat wound fluids activate the cell migratory response. *J Clin Invest*, 1995, 95: 227.
34. Woodley, D.T. et al. Re-epithelialization: Human keratinocyte locomotion. *Dermatol Clin*, 1993, 11: 641.
35. Stenn, K.S., Malhotra, R. Epithelialization. En Cohen, I.K., Diegelmann, R.F., Lindblad, W.J. *Wound healing. Biochemical and clinical aspects*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1992, pp. 115-127.
36. Stricklin, G.P., Nanney, L.B. Immunolocalization of collagenase and TIMP in healing human burn wounds. *J Invest Dermatol*, 1994, 103: 488.
37. Brown, G.L. et al. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *New Engl J Med*, 1989, 321: 76.
38. Eaglstein, W.H. et al. Optimal use of an occlusive dressing to enhance healing. *Arch Dermatol*, 1988, 124: 392.
39. Cohen, I.K., McCoy, B.J., Diegelmann, R.F. An update on wound healing. *Ann Plast Surg*, 1979, 3: 264.
40. Ninikoski, J. The effect of blood and oxygen supply on the biochemistry of repair. En Hunt, T.K. *Wound healing and wound infection: Theory and surgical practice*. Nueva York: Appleton-Century-Crofts, 1980.
41. Prockop, D.J. How does a skin fibroblast make type I collagen fibers? *J Invest Dermatol*, 1982, 79: 3s.
42. Diegelmann, R.F., Peterkofsky, B. Inhibition of collagen secretion from bone and cultured fibroblasts by microtubular disruptive drugs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1972, 69: 892.
43. Phillips, C., Wenstrup, R.J. Biosynthetic and genetic disorders of collagen. En Cohen, I.K., Diegelmann, R.F., Lindblad, W.J. *Wound healing. Biochemical and clinical aspects*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1992, pp. 152-176.
44. Burgeson, R.E. Genetic heterogeneity of collagen. *J Invest Dermatol*, 1982, 79: 25s.
45. Heldin, P., Laurent, T.C., Heldin, C.H. Effect of growth factors on hyaluronan synthesis in cultured human fibroblasts. *Biochem J*, 1989, 258: 919.
46. Bently, J.P. The role of chondroitin sulfate formation in wound healing. *Ann Surg*, 1967, 165: 186.
47. Peacock, E., Jr. *Wound repair*. 3ª edición. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1984, pp. 54-80.
48. Ronnov-Jensen, L., Peterson, O.W. Induction of alpha-smooth muscle actin by transforming growth factor-b1 in quiescent human breast gland fibroblasts. *Lab Invest*, 1993, 68: 696.
49. Baur, P.S. Jr., Parks, D.H. The myofibroblast anchoring strand. The fibronectin connection in wound healing and the possible loci of collagen fibril assembly. *J Trauma*, 1983, 23: 853.
50. Baur, P.S. Jr., Parks, D.R., Hudson, J.D. Epithelial mediated wound contraction in experimental wounds. The purse-string effect. *J Trauma*, 1984, 24: 713.
51. Madden, J W., Morton, D. Jr., Peacock, E.E., Jr. Contraction of experimental wounds. I. Inhibiting wound contraction by using a topical smooth muscle antagonist. *Surgery*, 1974, 76: 8.
52. Rudolph R. Inhibition of myofibroblast by skin grafts. *Plast Reconstr Surg*, 1979, 63: 473.
53. Frank, D.H., Brahme, J., Vande Berg, J.S. Decrease in rats of wound contraction with the temporary skin substitute Biobrane. *Ann Plast Surg*, 1984, 12: 519.
54. Frank, D.H., Bonaldi, L.C. Inhibition of wound contraction: Comparison of full-thickness skin grafts, biobrane, and aspartame membranes. *Ann Plast Surg*, 1985, 14: 103.
55. Baur, P.S. Jr. et al. Ultrastructural analysis of pressure-treated human hypertrophic scars. *J Trauma*, 1976, 16: 958.
56. Forrester, J.C. Sutures and wound repair. En Hunt, T.K. *Wound healing and wound infection: Theory and surgical practice*. Nueva York: Appleton-Century-Crofts, 1980, pp. 194-207.
57. Diegelmann, R.F., Bryan, C.P., Cohen, I.K. Tissue alpha-globulins in keloid formation. *Plast Reconstr Surg*, 1976, 59: 418.
58. Krane, S.M. Collagenases and collagen degradation. *J Invest Dermatol*, 1982, 79: 83.
59. Rennard, S.I., Stier, L.E., Crystal, R.G. Intracellular degradation of newly synthesized collagen. *J Invest Dermatol*, 1982, 79: 77.
60. Zitelli, J. Wound healing for the clinician. *Adv Dermatol*, 1987, 2: 243.
61. Berlinger, N.T. Wound healing. *Otolaryngol Clin North Am*, 1982, 15: 29.
62. Grant, G.A. et al. The activation of human skin fibroblast collagenase. Sequence identification of the major conversion products. *J Biol Chem*, 1987, 262: 5886.
63. Stetler-Stevenson, W.G. et al. The activation of human type IV collagenase proenzyme: Sequence identification of the major conversion product following organomercurial activation. *J Biol Chem*, 1989, 264: 1353.
64. Saus J. et al. The complete primary structure of human matrix metallo-proteinase 3: Identity with stromelysin. *J Biol Chem*, 1988, 263: 6742.
65. Levenson, S.M. et al. The healing of rat skin wounds. *Ann Surg*, 1965, 161: 293.