

13A

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



## **“ DETERMINACION DE LA DENSIDAD DE COLAGENA EN TEJIDO CICATRIZAL ELECTROESTIMULADO EN RATAS. ”**

### **T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :**

**DIANA ARTEAGA RUIZ**

**ASESORES: M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ  
M V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS**

MEXICO, D. F.,

1987



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	2
HIPOTESIS Y OBJETIVO .....	9
MATERIAL Y METODOS .....	10
RESULTADOS .....	14
DISCUSION .....	18
LITERATURA CITADA .....	21

**RESUMEN**

ARTEAGA RUIZ DIANA. Determinación de la densidad de colágena en tejido cicatrizal electroestimulado en ratas ( bajo la dirección de Héctor Sumano López y Luis Ocampo Camberos ).

Debido a la importancia de la densidad de colágena en el proceso de cicatrización hasta el décimo día, se evaluó dicha variable en 100 quemaduras de tercer grado producidas en igual número de ratas. Las quemaduras se llevaron a cabo bajo anestesia con un método preestablecido. La densidad de colágena se determinó indirectamente conforme a los niveles de hidroxiprolina al décimo día de producida la lesión. Los tratamientos fueron: Grupo A ratas tratadas con electroestimulación. Grupo B ratas tratadas con nitrofurazona. Grupo C ratas tratadas con zábila. Grupo D ratas tratadas con tepozcohuite y Grupo E no se le trató para tenerlo como testigo. Aplicando el medicamento a razón de 2 g por día a cubrir la herida por 7 días. Los resultados indican que la mayor cantidad de colágena se logró en el grupo tratado con acupuntura y zábila seguidos del grupo de tepozcohuite y nitrofurazona. Dado el papel de la colágena en la calidad cicatrizal se sugiere que el método A es especialmente útil para la regeneración de heridas.

## INTRODUCCION

Como se sabe, el proceso de cicatrización ha sido uno de los temas de mayor importancia desde que la medicina adopta a la cirugía como un medio para curar, aliviar o diagnosticar una enfermedad por medio de intervenciones manuales y donde una buena cicatrización representa el éxito de la misma ( 15 ).

Es por esto que uno de los principales objetivos cuando nos enfrentamos a una herida ya sea quirúrgica ó no, es que cicatrice lo más rápido posible para evitar complicaciones, que por cierto son comunes en nuestro medio. Tal es el caso de la contaminación bacteriana por las condiciones del medio ambiente.

A menudo, una cicatrización deficiente da lugar a eventraciones, heridas con extenso desarrollo de tejido de granulación o que facilitan la implantación de parasitosis y otros problemas. De hecho, la cicatrización en sí ofrece una cohesión de bordes inferior a la fuerza que presenta la piel en cualquier otra parte del cuerpo. Por esto, la tendencia moderna en la reparación de heridas es la de buscar regeneración tisular más que cicatrización ( 7 ).

A la fecha y a pesar de los múltiples esfuerzos realizados, aún no se puede aseverar que se tiene un medio farmacológico ó de cualquier otra índole para controlar la proliferación de colágeno en tejido cicatrizal ( 4 ). Esta limitación ha provocado un desarrollo pobre de los fármacos clasificados como cicatrizantes ( 4 )

Así que, si los resultados de este estudio demuestran que la electroestimulación es capaz de modificar los patrones de síntesis de colágeno, ésto servirá como paso inicial para justificar posteriormente el estudio del tipo de colágeno (I,II,III ó IV) ( 7 ) y su arreglo tridimensional en la herida ( 5 ).

Considerando la importancia de la colágeno en la reparación de una herida, se puede asumir que el estudio de la influencia de los campos eléctricos en la biosíntesis de colágeno, permitirá el análisis de uno de los puntos más importantes del proceso de cicatrización ( 4 ), lo que resulta congruente con la tendencia a considerar que a mayor cantidad de colágeno, mejor calidad en el pro-

ceso cicatrizal (16). La cantidad de colágena de un tejido se puede detectar conforme a la densidad de hidroxiprolina en el mismo, una metodología indirecta, pero universalmente aceptada (20).

Con el fin de lograr un criterio comparativo de la densidad de colágena en el tejido cicatrizal de quemaduras de tercer grado electroestimuladas, se considera útil evaluar también la densidad de colágena en quemaduras similares pero tratadas en forma ortodoxa con nitrofurazona (8), o de acuerdo con el criterio de que la zábila es un cicatrizante altamente eficaz (24).

Por otro lado, se eligió a la quemadura de tercer grado como modelo de lesión tanto por la dificultad de lograr una buena cicatrización en este tipo de lesiones, (12), como por la utilidad que un resultado positivo representaría.

Los hallazgos iniciales de Abolafia et al. (1) acerca del efecto benéfico de la electroestimulación sobre el proceso cicatrizal, fomentaron la realización de trabajos adicionales para evaluar, tanto la repetibilidad del procedimiento como su posible aplicación en heridas densamente contaminadas (21), con una pérdida considerable de tejido (3) y en quemaduras de tercer grado (13). Los resultados de estos trabajos indican que el proceso de cicatrización obtenida con la electroestimulación ofrece una notable tensión de herida, contrario a lo obtenido en condiciones habituales de cicatrización (23).

El análisis histopatológico demostró consistentemente en estos trabajos, que había un aumento en la densidad de colágena; característica que concuerda con la notable elasticidad y fuerza de tensión de herida ya mencionadas, además del aspecto poco conspicuo de las heridas. Sin embargo, a pesar de estos resultados, no es posible asegurar que existe un aumento definitivo en la densidad de colágena, ni una modificación en el tipo de colágena de neosíntesis, basándose únicamente en las observaciones histopatológicas (7).

Si se considera que se toma habitualmente la densidad de colá

gena de un tejido como correspondiente de su elasticidad y fuerza de cohesión ( 18 ), resulta necesario llevar a cabo estudios cuantitativos que añaden, ó en su caso restrinjan validéz a la electroestimulación como medio de obtener una cicatrización de superior calidad, objetivo final de la investigación en esta área - - ( 23 ).

La colágena es secretada por los fibroblastos y sus funciones principales fueron estudiadas por medio de autoradiografías examinadas a los microscopios óptico y electrónico demostrando de modo convincente que ésta célula sintetiza dos puntos principales, mucopolisacáridos y procolágena que es el término que se ha usado para describir el precursor soluble de las fibras de colágena ( 14, 10 ).

La colágena tiene una composición de aminoácidos muy característica, el aminoácido glicina aparece en proporción de 33.5%, -- mientras que la prolina y la hidroxiprolina están de 12 a 10% respectivamente. La colágena es la única proteína que contiene cantidad apreciable de hidroxiprolina, además de la colágena, solo la elastina contiene esta sustancia pero en cantidades insignificantes, en consecuencia, como ya se mencionó, el contenido de colágena de un tejido puede determinarse por la densidad de hidroxiprolina ( 17 ).

Las fibras colágenas en los tejidos están agrupadas en distribución paralela formando haces de fibras colágenas. Las fibras colágenas son estructuras cilíndricas alargadas y flexibles. Tienen un diámetro variable entre 1 y 20 micras y presentan estriaciones longitudinales por el hecho de estar constituidas por fibrillas con diámetro de 0.2 a 0.5 micras. Cada fibrilla está constituida a su vez por filamentos más finos llamados microfibrillas, estas tienen una estriación transversal típica que aparece en periodo de 640 Å y cada periodo está formado por dos bandas, -- una clara y otra oscura. Fig. 1

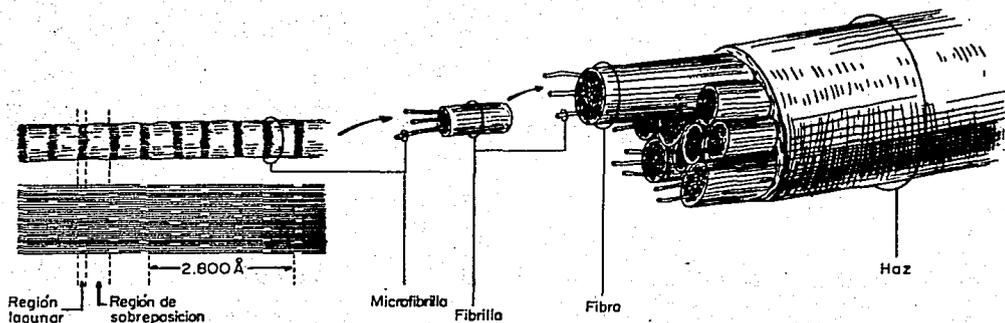


FIG. 1 Estructura de las microfibrillas, fibrillas, fibras y haces colágenos.

Un extracto de moléculas de colágena de un tejido dado puede verse como una molécula de 3 filamentos enrollados con una longitud de 3000 Å aproximadamente y un grosor de 15 Å aproximadamente Fig. 2. Las fibras son enrolladas de manera específica, llamadas hélices de colágena o colágena plegada, esta configuración sirve para estabilizar la molécula y darle rigidez (17).

Esta compleja molécula puede ser desnaturalizada y separada en tres fibras de polipéptidos individuales (terminación de las cadenas alfa). Hay varios tipos de cadenas alfa, las cuales pueden ser atribuidas a las diferencias genéticas que existen en la colágena de varios tejidos a través del cuerpo. Estos tipos son alfa 1 (I), alfa 2, alfa 1 (III) y alfa 1 (IV) (19).

La distribución de los aminoácidos es muy característica fig. 3. Cada tipo de colágena es una combinación de 3 cadenas alfa cada una de estas en un gen único producido con una secuencia de aminoácidos única. Hay muchas similitudes en estas cadenas, sin embargo todas las cadenas alfa consisten en una repetición de triplete de glicina y otros 2 aminoácidos, y esta triplete es un requerimiento absoluto para la formación de una hélice triple.

La glicina es el aminoácido más pequeño y esto permite que la

cadena alfa forme una hélice triple menor que es estabilizada por la hidroxiprolina la cual ayuda a formar puentes de agua que estabilizan la hélice triple a la temperatura del cuerpo. Esta hélice menor y ya estable es necesaria para la secreción normal de la colágena y hace que la molécula nativa de la colágena resista el resquebrajamiento de todos los tejidos proteolíticos a excepción de la colágenasa. Esta hélice menor también hace que la molécula de colágena este relativamente rígida y esta configuración es esencial para la organización de las moléculas de colágena que se transforman a fibrillas. Similarmente la deposición de la colágena en fibrillas y la presencia de hidroxilisina son ambas esenciales para la formación de enlaces cruzados intermoleculares, y estos a su vez, son esenciales para el desarrollo de la alta fuerza de tensión de las fibrillas de la colágena (2,17).

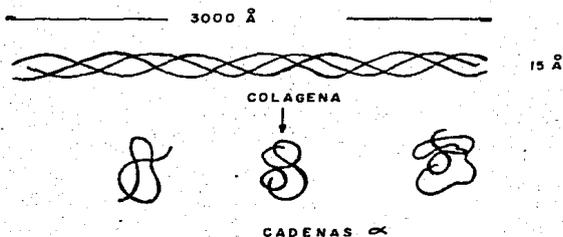


FIG. 2 . Molécula nativa de colágena con la hélice triple y la conversión a cadenas individuales debido a la desnaturalización.

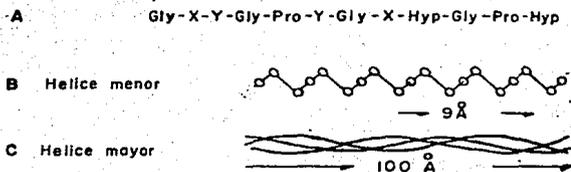


FIG. 3 . Secuencia típica de aminoácidos para las cadenas alfa de colágena.

### Tipos de Colágena

Como se sabe todas las moléculas de colágena son largas y rígidas y consisten en una triple hélice de 3 cadenas de polipéptidos, cadenas alfa. Sin embargo, hay al menos 7 y posiblemente 10 tipos diferentes de moléculas de colágena en el cuerpo. Estas moléculas diferentes pueden contener también 1 ó 2 tipos de cadena-alfa genéticamente diferentes. Por ejemplo, en el cartílago la colágena representa un tipo de colágena especializada en un tejido dado. Aparentemente este tipo de colágena es restringido a esas estructuras cartilaginosas y no se encuentran en otros tejidos.

La molécula de colágena la cual contiene 2 cadenas alfa 1 (1) más una cadena alfa 2 se encontrará en una variedad de tejidos incluyendo piel, dentina, hueso, ligamentos y otras estructuras; pero la colágena extraída de varios tipos de cartílago muestra solamente un sólo tipo de cadena alfa. Extensos estudios en esta cadena han mostrado que ésta es algo similar a la cadena alfa 1 (I) pero con varias diferencias en la composición y secuencia de los aminoácidos. Así que la cadena alfa aislada del cartílago ha sido designada alfa 1 (II) y la composición de la cadena de colágeno en estos tejidos es [alfa 1 (II)]<sub>3</sub>. En adición a la cadena alfa 1 (II) del cartílago, hay evidencia de 2 tipos adicionales genéticamente distintos de cadenas alfa. La cadena alfa 1 (III) ha sido detectada a nivel de péptidos bromocianogénicos de colágena insoluble dérmica, y se ha aislado y caracterizado de varios tejidos moleculares de la composición [alfa 1 (III)]<sub>3</sub> a partir de dermis, grandes vasos y algunos tumores de tejido conectivo. Las membranas basales poseen la composición de las cadenas [alfa 1 (IV)]<sub>3</sub> (6).

La siguiente colágena distinta genéticamente se encuentra en el cartílago y contiene 3 cadenas alfa 1 (II) idénticas. Otro tipo de colágena es abundante en dermis joven y ciertos tumores de tejido conectivo, siendo la composición de la cadena del tipo [alfa 1 (III)]<sub>3</sub>.

El cuarto tipo de colágena tiene moléculas con la composición --

ción de colágena alfa 1 (IV) <sub>3</sub> y también se encuentra en algunas membranas basales (6,17,19 ).

Un dato importante es que las proporciones en los diferentes tipos de colágena cambian con el tiempo en el mismo tejido; por ejemplo: el tipo III de colágena constituye más del 60% de la colágena en la piel fetal, pero cubre menos del 20% de la colágena de la piel del adulto. Por último, el significado fisiológico de los varios tipos de colágena no se conoce. Sin embargo, es razonable asumir que esta información puede ser de importancia en el estudio del desarrollo de anomalías en la cicatrización y enfermedades del tejido conectivo a nivel molecular (17).

TIPO	FORMA MOLECULAR	T E J I D O
I	[ Alfa 1 (I) ] <sub>2</sub> ∞ 2	Hueso, dermis, tendón, córnea dentina
II	[ Alfa 1(II) ] <sub>3</sub>	Cartílagos
III	[ Alfa 1(III) ] <sub>3</sub>	Dermis del feto y el lactante, sistema cardiovascular
IV	[ Alfa 1(IV) ] <sub>3</sub>	Membranas basales

Cuadro 1. Composición de las cadenas de los tipos conocidos de colágena y los tejidos en los cuales cada tipo de colágena se encuentra en abundancia.

## HIPOTESIS

La electroestimulación de quemaduras de tercer grado provoca un aumento en la densidad de colágena cicatrizal en ratas por comparación al logrado con nitrofurazona, zábila ( Aloe vera ) ó tepezcohuite ( Mimosa tehuiniflora ).

## OBJETIVO

Determinar la densidad de colágena cicatrizal en quemaduras de tercer grado en ratas tratadas con electroestimulación, nitrofurazona, zábila y tepezcohuite.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 100 ratas de la cepa Long-Evans, machos y hembras de aproximadamente 250-300 g de peso, divididas en 5 grupos de 20 cada uno de la siguiente manera:

- Grupo A. Tratado con electroestimulación: 7-10 voltios y - 60 Htz, durante 15 minutos diariamente, durante - 7 días, con un electroestimulador Akupunter 71-6\*
- Grupo B. Tratado con nitrofurazona ( Furacin )\*\* aplicado - diariamente 2 g a cubrir la herida, durante 7 - - días.
- Grupo C. Tratado con extracto de zábila fresco, aplicado - diariamente 2 g a cubrir la herida, durante 7 - - días.
- Grupo D. Tratado con polvo de corteza de tepezcohuite, - - aplicado diariamente 2 g a cubrir la herida, du - - rante 7 días.
- Grupo E. Testigo no tratado.

Las quemaduras se indujeron bajo anestesia con pentobarbi - tal de acuerdo con la técnica de Harrel y Mason (11) que se esque - matiza en la Fig. 4. Los tratamientos se iniciaron a las 12 h. - de haberse provocado la quemadura.

Se utilizaron adicionalmente 10 ratas con las mismas caracte - rísticas, en las que se realizaron las quemaduras ya mencionadas, evaluando la profundidad de la lesión con histopatología de routi - na. De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó que se - lograba una quemadura de tercer grado en todos los casos.

\* ACK Laboratories Inc. New York

\*\* Norwich Pharmacal de México, S.A. de C.V.

Al cabo de 7 días se obtuvieron 2 g del centro del proceso cicatrizal en el animal sacrificado y se sometieron al análisis cuantitativo de hidroxiprolina de acuerdo con lo descrito por Zika y Klein ( 25 ) y Neuman y Logan ( 20 ), que se resume a continuación.

La muestra de piel molida ( 2 g ) se calienta en 10-15 ml de ácido clorhídrico 6 M sobre baño de vapor durante 30 minutos y se mezcla antes de comenzar la hidrólisis a 120°C durante 3 Hrs.

Se toman alicuotas de 0.2 a 1 ml del hidrolizado con las diluciones apropiadas y se analizan por duplicado para la determinación de hidroxiprolina que se resume de la siguiente manera:

La cantidad de hidroxiprolina por muestra se convierte a colágena utilizando un factor 7.46 (25).

La determinación de hidroxiprolina se realiza a través de su reacción con para-demetilaminobenzaldehído que produce un intenso color rojo con la hidroxiprolina oxidada.

Los reactivos para el método son los siguientes:

- 1.- Solución std, de L-hidroxiprolina conteniendo 15 microgramos.
- 2.- Solución de sulfato de cobre 0.01 M
- 3.- Hidroxido de sodio 2.5 N
- 4.- Peróxido de hidrógeno al 6%
- 5.- Acido sulfúrico 3 N
- 6.- Para-dimetilaminobenzaldehído al 5% en propanol.

La curva estandar debe incluir concentraciones de hidroxiprolina entre 5-15 mg/ml

En cada tubo de ensaye se colocan las cantidades crecientes de hidroxiprolina en un volúmen de 1 ml y a cada tubo se le agregan sucesivamente 1 ml de cada una de las siguientes soluciones:

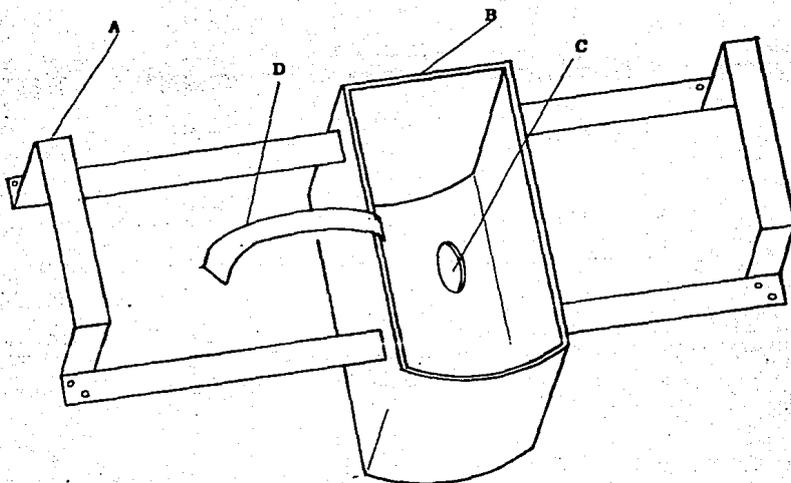
- Sulfato de cobre 0.01 M
- Hidroxido de sodio 2.5 N
- Peróxido de hidrógeno al 6%

Las soluciones se mezclan y se agitan ocasionalmente durante un periodo de 5 minutos y se colocan en un baño de agua por 5 mi -

nutos con agitación. Los tubos se enfrían en un baño de hielo y se añaden 4 ml de ácido sulfúrico 3 N con agitación. Posteriormente se añaden 2 ml de solución de para-dimetilaminobenzaldehído también con agitación.

Los tubos se colocan en un baño de agua a 70°C durante 16 minutos y después se enfrían bajo el chorro de la llave del agua.

Las soluciones se leen en un espectrofotómetro a 540 nanómetros (20).

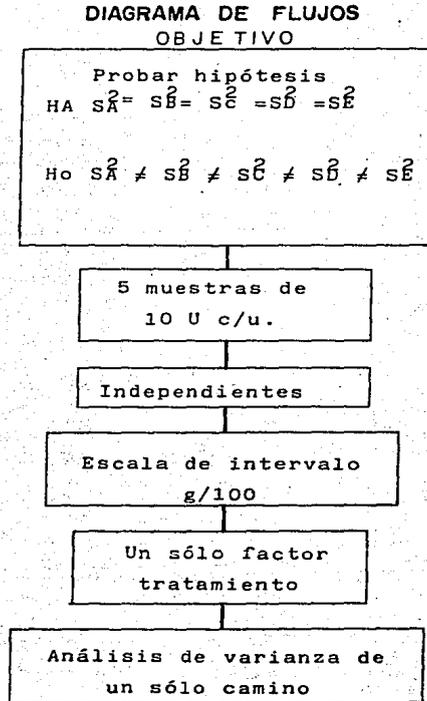


Agua a 95°C

Fig. 4. Representación esquemática del aparato para inducir quemaduras estandarizadas de 2º y 3º grado.

- A.- Barras para asegurar el aparato en los bordes de un depósito de agua a 95°C.
- B.- Sitio donde se sitúa a la rata anestesiada con el dorso hacia el orificio.
- C.- Orificio que permite el contacto de piel y agua a 95°C.
- D.- Banda de metal para presionar a la rata dentro de la cámara.

El análisis estadístico se resume en el siguiente esquema.



Con ello demostramos si existen ó no diferencias estadísticamente significativas entre los grupos debido al tratamiento.

## RESULTADOS

En la fig.5 Se presenta la curva de recuperación de hidroxiprolina utilizada como base para determinación de las muestras. La curva tiene una confiabilidad de más del 95% en su regresión lineal.

En el cuadro No. 2 se presentan los datos del contenido de hidroxiprolina, expresados en gramos por cada 100 g de proteína. - Cada una de las muestras estudiadas fue corrida para formación de color conforme a la prueba de Neuman y Logan (20) 5 veces.

Cuadro No. 2

Contenido de hidroxiprolina g/100g de proteína + error std.

Muestra No.	Electroacupuntura	Zábila	Tepezcohuite	Nitrofurazona	Control
1	13.3±0.029	10.1±0.075	10.1±0.11	9.0±0.05	8.6±0.12
2	14.1±0.087	11.6±0.12	10.1±0.04	8.6±0.14	9.0±0.15
3	13.6±0.14	12.8±0.16	9.5±0.030	8.3±0.11	9.3±0.16
4	13.7±0.11	12.9±0.08	10.2±0.09	8.4±0.06	9.2±0.06
5	14.3±0.06	11.9±0.16	9.9±0.18	8.3±0.16	9.8±0.07
6	13.3±0.14	12.1±0.06	9.8±0.15	9.1±0.07	8.7±0.16
7	14.2±0.07	11.8±0.14	10.0±0.15	8.7±0.16	9.0±0.06
8	13.7±0.15	12.0±0.08	10.3±0.06	9.0±0.09	9.5±0.06
9	14.2±0.033	11.8±0.083	9.8±0.15	8.8±0.17	9.2±0.17
10	14.3±0.139	12.6±0.123	9.6±0.14	8.7±0.06	9.6±0.16

## ANALISIS DE VARIANZA

Electro acupuntura	Zábila	Tepezcohuite	Nitrofurazona	Control
13	10	10	9.0	8.6
14.1	11.6	10.1	8.6	9.0
13.6	12.8	9.5	8.3	9.3
13.7	12.9	10.2	8.4	9.2
14.3	11.9	9.9	8.3	9.8
13.3	12.1	9.8	9.1	8.7
14.2	11.8	10.0	8.7	9.0
13.7	12.0	10.3	9.0	9.5
14.2	11.8	9.8	8.8	9.2
14.3	12.6	9.6	8.7	9.6

Cuadro 3: Contenido de hidroxiprolina en g/100g. de proteína.

Cuadro 4: Datos relevantes del análisis de Varianza.

n= 10	10	10	10	10
$\bar{X} = 13.84$	11.95	9.87	8.69	9.19
$\sum X^2 = 1917.3$	1434.07	974.99	755.93	845.87
$\sum X = 138.4$	119.5	98.7	86.9	91.9
d.e. = 0.429	$\pm 0.777$	$\pm 0.286$	$\pm 2.277$	$\pm 0.361$

$$A = 5928.16$$

$$B = 1904.4 + 1428.25 + 974.169 + 755.16 + 844.561 = 5906.316$$

$$C = 5733.0632$$

FV	SC	GL	CM	F
Entre grupos Tratamiento	B-C= 173.2528	K-1 4	43.31	89.29
Dentro de grupo (error)	A - B 21.844	N - K 45	0.485	
T o t a l	A - C 195.0968	N - 1 49	3.981	

$$F_t = 2.60 < 89.29$$

$$\alpha = 0.05$$

∴ Si hay diferencias estadísticamente significativas.

Extinción

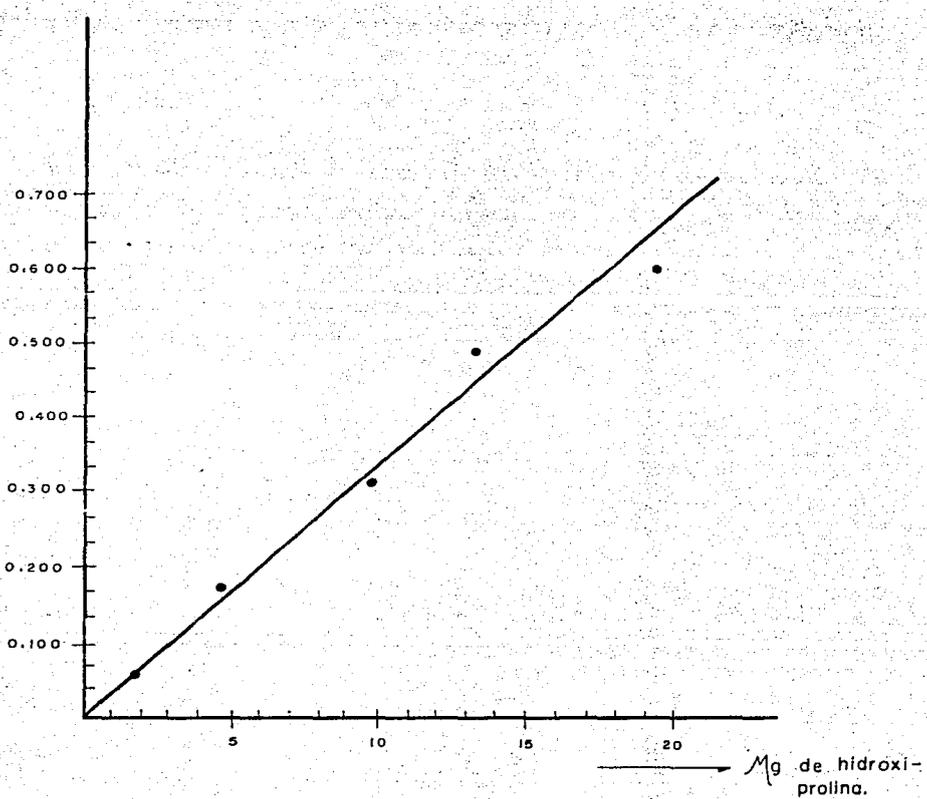


Fig. 5 Curva de recuperación para hidroxiprolina con la formación de color mediante el método de Zika y Klein (25) y Neuman y Logan (20).

$E = 2 - \log.$  del por ciento de la transmisión de la luz con filtro del N°540.

## DISCUSION

Es interesante destacar que la metodología de Harrel y Mason ( 11 ) para inducir quemaduras de tercer grado resulto ser confiable en cuanto a la homogeneidad de la profundidad de la lesión.

Por lo tanto, se sugiere que se adopte dicho método como base para estudios en quemaduras de tercer grado. Tiene la ventaja adicional de producir una lesión bien circunscrita y su realización es relativamente sencilla. La muestra más evidente de la homogeneidad de la lesión puede reflejarse en la notable homogeneidad de los resultados de la densidad de colágena. Al respecto de la metodología para determinar la densidad de colágena, se encontró que el método de Neuman y Logan ( 20 ) es suficientemente exacto y sensible como para detectar variaciones mínimas en la densidad de hidroxiprolina en los distintos tejidos cicatrizales evaluados. Las fluctuaciones máximas fueron de 8.3 y 14.3 lo que solo representa una variación de 6.

A pesar de que las fluctuaciones en hidroxiprolina entre los diversos tejidos fueron poco notorias, sí se lograron diferencias estadísticamente significativas, en particular entre la electroestimulación y los grupos de nitrofurazona y testigo (  $P < 0.05$  ).

Es probable que lo poco marcado de las diferencias se deba a que el proceso de colagenólisis se halla iniciado cercano al día del sacrificio ( 9 ). De cualquier manera, y de acuerdo con el criterio de que la densidad de colágena per se es un parámetro relevante para determinar la calidad del proceso cicatrizal ( 20 ), se obtuvieron en este ensayo resultados congruentes con las descripciones histopatológicas y de tensión de herida logradas en el mismo laboratorio bajo las mismas condiciones ( 22,1,3 ). Esto es la electroestimulación, brinda notables efectos promotores de la cicatrización, que incluyen una rápida reepitelización ( 1,22 ) y protege a la herida contra infecciones ( 3 ).

Con este diseño es posible añadir a las virtudes cicatrizantes de la electroestimulación el hecho de que aumenta la densidad de colágena dentro de los diez primeros días de tratamiento. Sin embargo sería interesante evaluar el tipo de colágena obtenido, ya que el

tejido cicatrizal se caracteriza por tener colágena del tipo III (5) que es menos resistente y elástico: que la colágena tipo I del tejido normal (5,7).

También destaca de los resultados obtenidos la nula diferencia en la densidad de hidroxiprolina entre los grupos testigo y nitrofurazona ( $P < 0.05$ ), y de hecho, el valor promedio de hidroxiprolina en el grupo tratado con nitrofurazona fué menor al grupo testigo, lo que indica, en el mejor de los casos, que la nitrofurazona ni fomenta ni estorba a la cicatrización; y en el peor de ellos que inhibe dicho proceso: lo que, resulta congruente con los resultados de Rodríguez (21), Illádez (13), Cañedo (3), Ruíz (22) y Sumano (24), en los cuales se considera a la nitrofurazona como una mala alternativa para la cicatrización.

Curiosamente, y en contradicción a las aparentes virtudes clínicas del tepezcohuite en quemaduras de tercer grado, los resultados de este ensayo indican una proliferación de colágena menor a la zábila pero ciertamente superior al testigo y a la nitrofurazona. No obstante, no se pueden considerar como conclusivos los datos aquí obtenidos ya que restaría por evaluar el tipo de colágena que se logra con el tepezcohuite, que quizá determine con mayor influencia el aspecto y la funcionalidad de la cicatriz (7).

Finalmente, se puede derivar de este estudio que, si la densidad de colágena es un factor importante para la cicatrización, tanto la electroestimulación de la herida como la zábila y el tepezcohuite, pueden considerarse como agentes cicatrizantes.

LITERATURA CITADA

1. Abolafia, J.J.A., Sumano, L.H., Navarro, R.R. y Ocampo, C.L.: - Evaluación del efecto cicatrizante de la acupuntura. Rev. Vet. Méx., 16: 27-31 (1985)
2. Bailey, A.J., m Robins, S.P., Balion, G.: Biological Significance Of the Intermolecular cross link of collagen. Nature 251: - 105-106 (1974)
3. Cañedo, R.H.: Efecto de la acupuntura sobre la reparación por segunda intención. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. (1985)
4. Chvapil, M.: Zinc y otros factores farmacológicos que intervienen en la cicatrización. Cicatrización e Infección de las heridas. Teoría y Práctica Quirúrgica. Editado por Hunt, T.K., El Manual Moderno, México, D.F. (1983).
5. Douglas, D.M., Forrester, J.C. Ogilvie, R.R.: Physical Characteristics of collagen in the later stanges of wound healing. Br. J. Surg. 56:219-220. (1969).
6. Eptein, E.H.Jr., Munderloh, N.H.: Isolation and Characterisa - tion of CNBr peptides of human type III coolagen and Tissue dis - tributary type I and Type III collagen. J.Biol. Chem. 250: 9304-9305 (1975).
7. Forrester, J.C.: Morfología de la colágena en el tejido normal - y en las heridas. Cicatrización e infección de las heridas. Te - oría y Práctica Quirúrgica. Editado por Hunt, T.K., El Manual Moderno, México, D.F., (1983).
8. Goodman, L.S. and Gilman, A.: The Pharmacological Basic of The - rapeutics, 5th ed. Macmillan Publishing Co. Inc. New York, (1985)
9. Grillo, H.C. and Gross, J.: Collagenolytic activity during ma - mmalian wound repair Develop. Biol., 15: 300-317 (1967)

10. Ham, W.A.: Tratado de Histología, 7a. ed. Ed. Interamericana:  
(1975)
11. Harrel, L., Walker, M.S. And Mason, A.D.: A standar animal -  
burn. J. Traum., 8 (6): 1049-1051 (1968)
12. Hinshaw, J. y Miller, E.R.: Histology of healing split-hnicker  
ss, jull thickeness autogenous Skin-grafts and donar sites.  
Arch. surg., 91: 568-665 (1965)
13. Illadez, R.M.Evaluación del efecto de la electroestimulación -  
en la cicatrización de piel con quemaduras de tercer grado en  
ratas.  
Tésis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.  
Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1985)
14. Junqueira, L.C., y Carneiro, J.: Histología Básica 2a ed. Sal-  
vat Editores: (1974)
15. Lazzeri, L.: Fundamentos de la técnica quirúrgica: Dieresis, -  
hemostasis, sutura. Textos Universitarios de la U.N.A.M., Méxi  
co, (1975).
16. Madden, J.W. Peacock, E.E. Jr.: Studies on the biology of co -  
llagen during wound healing. I. Rate of collagen. Synthesis -  
and deposition in cutaneous of the rat. Surgery 64: 188-189 -  
(1968).
17. Miller, E.J.: Chemistry, Structure and Funtion of tha collagen  
en: Biologic basic of wound healing, edit by Menaker, L. Har -  
per and Row publishers (1975)
18. Miller, A.T.: Cicatrización de lesiones cutáneas incompletas -  
en: Cicatrización e Infección de las heridas.  
Teoría y Práctica Quirúrgica. editado por Hunt, T.K., El Ma -  
nual Moderno, México, D.F. (1983)
19. Minor, R.R.,: Types of collagen. Am. J. of Path.98: 302-205, -  
(1980)

20. Neuman, R.E. and Logan, M.A.: The determination of hydroxyproline J. Biol. Chem., 184: 299-306 (1950)
21. Rodríguez, F.O.: Evaluación de la capacidad de cicatrización de un campo eléctrico en heridas contaminadas con Staphylococcus aureus.  
Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.  
Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1985).
22. Ruiz, M.A.: Comparación de los efectos cicatrizantes de los campos eléctricos, el Tepozcohuite (Mimosa Tehuiniflora), la zábila (Aloe vera) y la nitrofurazona, en quemaduras de tercer grado.  
Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.  
Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1987).
23. Sumano, L.H., Cassaubon, E.T., y López, B.G.: Effects of electroacupuncture on second intention wound healing.  
Can. J. of Surgery., (in press) (1987)
24. Sumano, L.H., Ocampo, C.L. Gaytan, C.B. y González de la V.M.: Eficacia cicatrizante de varios medicamentos de patente la zábila y el propoleo.  
Rev. Vet. Méx. 18: 33-37 (1987)
25. Zika, J.M. and Klein, L.: Relative and absolute changes in skin collagen mass in the rat.  
Biochim, Biophys, Acta 229: 509-514 (1971)