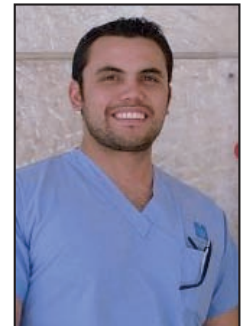


El trasplante autólogo de células mesoteliales como acelerador y modificador de la cicatrización cutánea en ratas

Autologous mesothelial cells transplantation as accelerator and skin healing modifier in rats



Esparza Iturbide, R.

Esparza Iturbide, R.*, Hernández Baro, M.C.**, Curiel Valdés, J.J.***, Valanci Aroesty, S.*, Robles Castillo, J.*, Maydon Gonzalez, H.G.*, Chousleb Kalach, A.****

Resumen

Abstract

El propósito del presente estudio fue comprobar si el autotrasplante de células mesoteliales peritoneales en heridas de espesor total en ratas acelera y modifica el proceso de cicatrización cutánea normal, basándonos en la teoría de que las células mesoteliales provenientes de tejidos como el peritoneo, pleura o pericardio, son responsables de uno de los procesos de cicatrización más rápidos y sintetizan varios factores estimulantes y quimiotácticos de la cicatrización (causantes de las adherencias intra-abdominales), además de que poseen la capacidad de diferenciarse en otras series celulares (plasticidad).

Diseñamos un estudio experimental, analítico, longitudinal, prospectivo y comparativo, en el Laboratorio de Cirugía Experimental del Centro Médico ABC Observatorio, México D.F. (México).

Se emplearon 15 ratas cepa Wistar, divididas en 2 grupos: Grupo I (n=5) en el que previa anestesia general, se extirparon 3 mm. de diámetro de piel de la región dorsal mediante técnica microquirúrgica y cierre por segunda intención; y Grupo II (n=10) en el que se realizó minilaparotomía con escisión de peritoneo parietal, cierre primario de la misma, escisión de piel de espesor total en región dorsal de 3 mm. de diámetro y colocación del autoinjerto peritoneal en la herida dorsal.

En el análisis histológico se revisaron 6 variables: colágeno, fibroblastos, número de vasos, macrófagos, células inflamatorias y grado de retracción, para puntualizar integralmente el tipo y características de la cicatrización en ambos grupos.

El análisis estadístico de datos se elaboró con *Statistical Package of Social Sciences 17.0*. Se realizó estadística descriptiva por medio de medidas de frecuencia, de tendencia central y de dispersión.

Los resultados mostraron que los individuos del Grupo I presentaron mayor inflamación, fibrosis y retracción, datos compatibles con una fase proliferativa de cicatrización. En el Grupo II se encontró menor inflamación y fibrosis, mayor colágeno y datos compatibles con una fase de remodelación.

En conclusión, el autotrasplante de células mesoteliales peritoneales en heridas de espesor total acelera el proceso de cicatrización cutánea normal en ratas ya que disminuye la inflamación, la fibrosis y aumenta el colágeno.

The purpose of this study was to verify if the autologous peritoneal mesothelial cells in full thickness wounds on rats, speed up and adjust the normal skin healing process. Based on the theory that mesothelial cells from tissues such as peritoneum, pleura or pericardium, are responsible for one of the faster healing process and synthesize stimulating wound healing and chemotactical factors (hence the genesis of surgical adhesions), besides possessing the ability to differentiate into other cell series (plasticity).

We designed a pilot, analytical, longitudinal, prospective and comparative study in the Laboratory of Experimental Surgery at The American British Cowdray Medical Center, Mexico City (Mexico).

Were used 15 Wistar rats which were divided into 2 groups: Group I (n = 5) where after general anesthesia, skin removed 3 mm in diameter with microsurgical technique in the back and was close by secondary intention; and Group II or experimental group (n = 10) where laparotomy was performed with excision of the parietal peritoneum and primary closure, excision of full thickness skin on the dorsal surface of 3mm diameter and peritoneal autograft placement on the dorsal wound. In histological analysis, were reviewed 6 variables: collagen, fibroblasts, number of vessels, macrophages, inflammatory cells and retraction, to point out fully the nature and characteristics of healing in both groups.

For the statistical analysis we used *Statistical Package for Social Sciences 17.0*. The descriptive statistics was made using frequency measures of central tendency and dispersion.

The results showed that the Group I rats, had increased inflammation, fibrosis and retraction, data support a proliferative phase of healing. In the Group II or experimental were found less inflammation and fibrosis, increased collagen and data consistent with a remodeling phase.

In conclusion, we found that autologous peritoneal mesothelial cells in full thickness wounds accelerates the normal skin healing in rats by decreasing inflammation, fibrosis and increased collagen.

Palabras clave Cicatrización, Trasplante,
Células mesoteliales.

Código numérico 1530-158405

Key words Healing, Transplantation,
Mesothelial cells.

Numeral Code 1530-158405

* Residente de Cirugía General, The American British Cowdray Medical Center I.A.P. México D.F., México.

** Jefe del Laboratorio de Cirugía Experimental "Karl Storz", The American British Cowdray Medical Center I.A.P., México D.F., México.

*** Patólogo. Laboratorio de Diagnóstico Clínico Hamburgo. México D.F., México.

**** Director Laboratorio de Cirugía Experimental "Karl Storz", The American British Cowdray Medical Center I.A.P. México D.F., México.

Introducción

Las células mesoteliales son responsables de generar en forma de islas, el proceso más rápido de cicatrización y regeneración tisular en el humano, de ahí la génesis de las adherencias intrabdominales; este proceso activa la secuencia de inflamación, el depósito de fibrina junto a exudado inflamatorio y, posteriormente, una organización de la fibrina con invasión de fibroblastos que conduce a la creación de colágeno, seguida por su maduración hasta generar adherencias fibrosas maduras (1). Las células mesoteliales además de los factores de crecimiento cuentan con la enzima activadora del plasminógeno (AP) cuya actividad previene la formación de adherencias. Sin embargo, la lesión tisular también genera la liberación de inhibidor 1 y del inhibidor 2 del activador del plasminógeno (IAP1, IAP2) a partir de las células inflamatorias, mesoteliales y endoteliales, con la posterior pérdida de la actividad de AP y la estimulación de la regeneración peritoneal. Se ha logrado precisar que estos eventos suceden al cabo de 6 a 12 horas (2,3). Son productoras de varias decenas de factores cicatrizantes, desde el factor de crecimiento de queratinocitos hasta el factor estimulante derivado del endotelio y de una cantidad extensa de sustancias procicatrizantes como fosfolípidos, fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina, esfingomielina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina y lisofosfatidiletanolamina, encargadas de formar la capa protectora peritoneal regenerativa (1-4). Algunos estudios han observado regeneración nerviosa en ratas implantadas con células peritoneales (4). Además, las células mesoteliales tienen la capacidad de diferenciarse en varias líneas celulares de acuerdo a las necesidades del medio, característica conocida como plasticidad (4). Producen además citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), el factor de crecimiento transformador beta (TGF-β), el factor de crecimiento plaquetario (PGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), el factor de crecimiento epitelial (EGF), endotelina 1, y el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), entre otros (4-7).

El proceso de cicatrización cutánea se compone de 6 fases: hemostasis e inflamación, proliferación, síntesis de la matriz, maduración y remodelación, epitelización y contracción de la herida. En condiciones normales, el proceso primario de cicatrización se lleva a cabo en un tiempo mínimo de 7 días como promedio desde la lesión tisular (8). Durante este proceso existen varios tipos de células que interactúan de forma armoniosa para que todo se realice normalmente, como fibroblastos, miofibroblastos, células musculares lisas, células endoteliales, queratinocitos y células inmunes (9).

Existen enfermedades y factores que se relacionan con el retraso y/o déficit de la cicatrización y que se presentan

comúnmente en nuestro medio, tales como el tabaquismo, la diabetes mellitus, hipertensión arterial, insuficiencia vascular periférica, trombosis venosa profunda, los defectos en la síntesis de colágeno, el cáncer, las quemaduras y los trastornos nutricionales, por citar algunos (10). Estas patologías presentan defectos en la cicatrización, ya sea por retraso del proceso o por mala calidad del tejido adyacente; una vez corregido el problema sistémico de base, es necesario estimular la cicatrización para disminuir la morbilidad de las heridas y acelerar la reparación del defecto.

Existen múltiples tratamientos para estimular y/o acelerar la regeneración cutánea en pacientes con pérdida extensa de piel o con enfermedades que retrasan la cicatrización. Algunos factores de crecimiento se han usado en estudios para acelerar la cicatrización, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento de fibroblastos, el factor de crecimiento similar a la insulina, el factor de crecimiento de queratinocitos y el factor de crecimiento derivado del endotelio. El único que ha sido aprobado para su uso en humanos es el factor de crecimiento derivado de las plaquetas; el resto siguen bajo investigación sin hallazgos favorables. Se han usado múltiples tejidos, desde membranas amnióticas hasta sustancias proteicas tópicas. Además se han empleado diferentes tejidos como aloinjertos, apósitos biológicos o naturales, sustitutos aloplásticos, de elaboración artificial, materiales de procedencia biológica y/o sintéticos inertes, cultivos in vitro por explantación de células epidérmicas y/o dérmicas. Todos ellos con resultados y costos variables (10). También se han empleado moléculas como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, con excelentes resultados, pero su costo lo hace poco aplicable. En realidad pocos pacientes con este tipo de problema tienen a su alcance estos métodos terapéuticos debido a su baja disponibilidad y altos costos.

Hasta donde sabemos, no existen estudios experimentales previos ni la hipótesis teórica del uso de células mesoteliales peritoneales autólogas implantadas en heridas cutáneas de espesor total para acelerar y modificar la cicatrización cutánea, lo que supone un excelente terreno de investigación en el campo de la ingeniería tisular, razón principal de esta investigación. La cicatrización de tejidos así como la regeneración tisular pueden estimularse con el uso de tejidos autólogos, lo que disminuye las reacciones inmunológicas y la posibilidad de rechazo, facilita la obtención de los mismos y disminuye los costos; de ahí que el uso de células se haya convertido en la principal rama de la investigación en materia de regeneración tisular. Se han utilizado células madre, pero no células mesoteliales para estimular la cicatrización en heridas; sus resultados han mostrado aumento de la vascularización y cicatrización variable, pero la mayoría de los estudios indican la necesidad de más experimentación en este terreno (10). Existen estudios con células mesoteliales en otros

tejidos, como arterias y miocardio, que han demostrado inducir neovascularización en células miocárdicas infartadas (11). Se han observado y estudiado las células mesoteliales formadoras del tejido peritoneal y su excelente capacidad de regeneración y se han tratado de inhibir durante años en cirugía abdominal por ser responsables de la génesis de las adherencias tan temidas en cirugía; ahora se usan en el campo de investigación en Cirugía Plástica, aprovechando sus propiedades físico-químicas, para acelerar la cicatrización de heridas cutáneas.

Material y método

Realizamos un estudio experimental, analítico, longitudinal, prospectivo y comparativo. Los animales fueron donados por el Bioterio Central de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y la fase experimental y el alojamiento de las ratas se realizó en el Departamento de Cirugía Experimental del Centro Médico ABC Observatorio, México D.F. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de la institución según los lineamientos internacionales. Empleamos 15 ratas cepa Wistar, hembras, de 250 a 300 gr. de peso, las cuales tuvieron agua y alimento *ad libitum* y estuvieron expuestas a ciclos naturales de luz y oscuridad y mantenidas a temperatura ambiente. Se dividieron en 2 grupos: Grupo I (n=5) y Grupo II (n=10). Los criterios de inclusión fueron: ratas raza Wistar, género hembras, peso de 250 a 300 gr., clínicamente sanas; fueron excluidas las ratas macho, las que no cumplieron los criterios de inclusión y las que fallecieron durante las primeras 24 horas del postoperatorio, ya que esta complicación se relacionó directamente con el método anestésico y no con la técnica quirúrgica.

Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico intraperitoneal a una dosis de 1 ml/ 2.5 kg de peso. Se les realizó tricotomía del abdomen y de la región dorsal, asepsia y antisepsia; posteriormente se realizó marcaje milimétrico con tinta indeleble, se extirpó quirúrgicamente piel en espesor total en un diámetro de 3 mm con una incisión circular, dejando la herida abierta en ambos grupos. A las ratas del Grupo I únicamente se les extirpó piel de región dorsal de espesor total y a los 8 días de postoperatorio se tomó biopsia del área para ser enviada a estudio histopatológico. En el Grupo II se siguió el procedimiento quirúrgico descrito y después se realizó una incisión paramediana en abdomen de 10 mm de longitud, por donde se tomó una muestra de aproximadamente 2 mm de membrana peritoneal parietal que se implantó inmediatamente en la región dorsal sin piel; dicho implante se fijó con 3 puntos simples de polipropileno 7/00 y la laparotomía se cerró por planos con polipropileno 6/00. A los 8 días se tomó biopsia de la región injertada para ser enviada a estudio histopatológico. Ambos grupos se trataron para analgesia durante el postoperatorio inmediato con ketorolaco a dosis estándar de 0.25 mg/kg en dosis única. Ambos grupos fueron observados durante 8

días, llevándose a cabo un seguimiento fotográfico para evidenciar los cambios macroscópicos y cronológicos. Al 8º día se sacrificaron los animales y se tomaron biopsias de las lesiones en fase de cicatrización.

Las biopsias fueron etiquetadas de forma ciega por un patólogo y revisadas por un segundo patólogo. Los datos se capturaron en una base de datos del programa Microsoft Excel versión 2007. Se desarrolló una escala de valoración numérica y visual (ENV) para puntuar los grados de diferenciación con los resultados de acuerdo al número de células y hallazgos vistos en las biopsias, asignando un valor a cada resultado, de forma que: (0) = nulo o 1; (+) = mínimo o 2; (++) = leve o 3; (+++) = moderado o 4; (++++) = severo o 5 y (+++++) = abultado o 6. Para el parámetro de presencia de vasos se desarrolló una segunda escala numérica y visual: de 0 a 5 = mínimo o 1; de 5 a 10 = leve o 2; 10 a 15 = moderado o 3; 15 a 20 = severo o 4 y mayor a 20 = congestión o 5.

Para el análisis de datos se utilizó *Statistical Package of Social Sciences* (SPSS) 17.0. Se realizó estadística descriptiva mediante medidas de frecuencia, de tendencia central y de dispersión. Se realizó estadística univariada para comparar ambos grupos, dado que eran independientes, y se utilizó prueba de U-Mann-Withney para comparar variables cualitativas ordinales (colágeno, fibroblastos, macrófagos, células inflamatorias y retracción); para las variables cuantitativas (formación de vasos) se realizó prueba de T-student con un intervalo de confianza del 95%, considerando significativa en ambos casos una p menor de 0.05. También se realizó análisis multivariado donde se incluyeron todas las variables anteriores para observar la modificación del proceso de cicatrización. El análisis estadístico fue realizado y revisado de forma simultánea por dos especialistas en bioestadística de diferentes centros hospitalarios.

RESULTADOS

En ambos grupos se realizó valoración de acuerdo al número de células vistas en las biopsias y se asignó un valor de acuerdo a nuestra escala de valoración numérica visual (ENV); se analizaron 6 variables: colágeno, fibroblastos, número de vasos, macrófagos, células inflamatorias y grado de retracción. En el caso del colágeno, esta variable fue cuantificada de acuerdo a su densidad en las biopsias y se le asignó un valor de acuerdo a nuestra escala. Se encontró mayor presencia de colágeno en los individuos del Grupo II (2.5 ENV) que en los del Grupo I (1 ENV). Para los fibroblastos fue mayor el número encontrado en el Grupo I (3 ENV) que en el Grupo II (2 ENV). La variable macrófagos fue mayor en el Grupo I (1 ENV), mientras que no se observó en ningún individuo del Grupo II. En cuanto a células inflamatorias, fueron observadas en el Grupo I (1 ENV) mientras que no fueron encontradas en ninguno individuo del Grupo II. La variable de retracción fue mucho mayor en los individuos del Grupo I (3 ENV) que en el Grupo II (1 ENV) (Grá-

fico 1). Estos resultados muestran que los individuos del Grupo I presentaron mayor inflamación, fibrosis y retracción, datos compatibles con una fase proliferaría de cicatrización o más temprana; mientras que en el Grupo II se encontró mayor colágeno y datos histológicos compatibles con una fase de remodelación, además de menor inflamación y fibrosis, lo cual representa una fase más tardía de cicatrización. (Gráfico 1). Resultaron significativas 5 de las 6 variables analizadas (Fig. 1, Tabla I).

Un individuo del grupo experimental, presentó dehiscencia de la herida abdominal en el 8° día de postoperatorio, siendo ésta la única morbilidad reseñada en el estudio, y permitió la toma de la biopsia dorsal antes de ser sacrificado; de acuerdo a los resultados de los demás individuos esta complicación no representó ningún riesgo para la cicatrización en la región dorsal (Fig. 2).

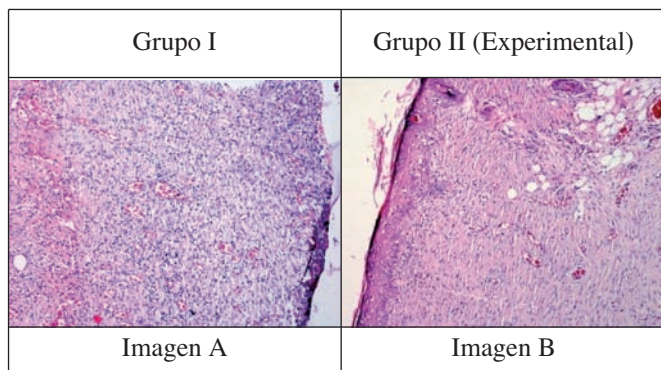


Fig. 1. Comparación histológica. Imagen A: un individuo del Grupo I, donde se observan vasos sanguíneos, presencia de células inflamatorias y colágeno, lo que es compatible con una fase proliferativa de cicatrización. Imagen B: un individuo del Grupo II, que muestra menor número de células inflamatorias y de vasos sanguíneos y mayor presencia de colágeno, características predominantes en la fase de remodelación de la cicatrización (Tinción HE. X 100).

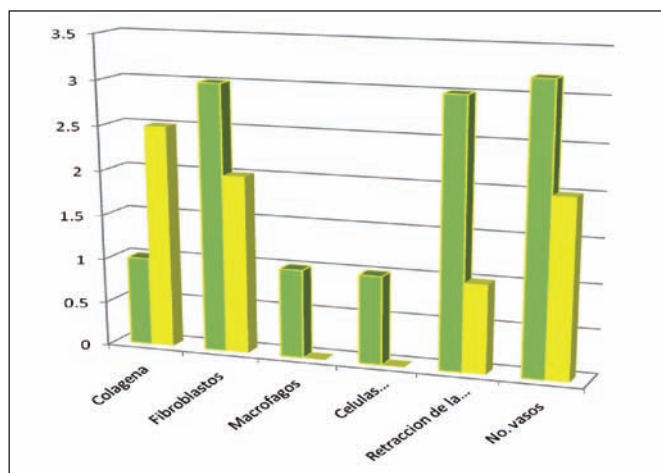


Gráfico 1. Comparación de Medianas. Condensa y compara las medianas de las variables por grupos, observando mayor presencia de colágeno y ausencia de células inflamatorias y macrófagos en el Grupo II o experimental (Ex) en color amarillo, así como una mayor presencia de retracción, vasos y fibroblastos en el Grupo I (Co) en color verde. Todo ello indica una mejor y más avanzada fase de cicatrización en el Grupo II o experimental.

Discusión

Aunque se trabajó con un número pequeño de animales, los resultados observados con el uso de células mesoteliales como estimulantes de la cicatrización cutánea

Tabla I. Comparación por variable y significancia: muestra la significancia de las variables por grupo, donde podemos observar que las variables macrófagos, células inflamatorias, número de vasos y retracción de la cicatriz son estadísticamente significativas con una $p < 0.01$. La variable colágeno fue significativa con una $p < 0.05$. La variable fibroblastos no resultó estadísticamente significativa con una p de 0.136.

	Grupo I (Ex)	Grupo II (Co)	P
Colágeno	2.5b	1b	0.042*
Fibroblastos	2b	3b	0.136
Macrófagos	0b	1b	0.002**
Células inflamatorias	0b	1b	0.002**
Retracción de la cicatriz	1b	3b	0.003**
Nº de vasos	2a	3.2a	0.003**

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

a = T –Student

b = U Mann –Witney

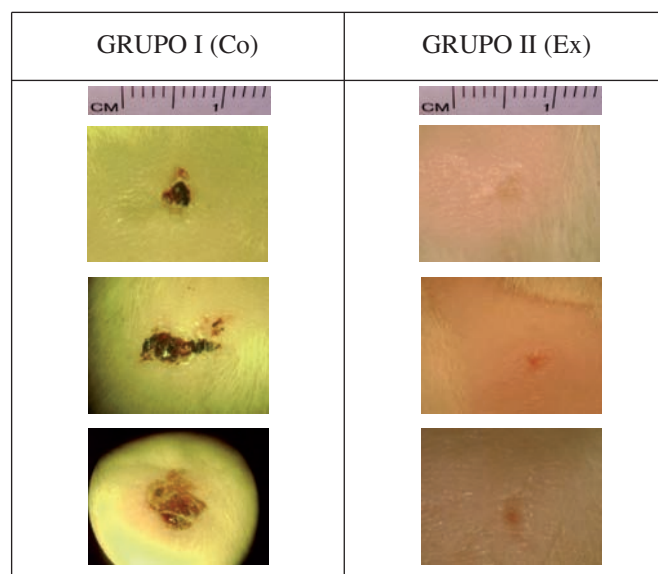


Fig. 2. Comparación Macroscópica: muestra fotografías de 3 individuos del Grupo I (izquierda) y 3 individuos del Grupo II (derecha). Se observan las diferencias macroscópicas en la cicatrización: los individuos del Grupo II se encuentran en una fase de remodelación mientras que los del Grupo I están en una fase proliferaría.

son muy alentadores ya que se observó que aceleran la cicatrización en heridas cutáneas de espesor total, mejoran la calidad de la misma y aumentan la síntesis de colágeno, disminuyen significativamente la inflamación y la retracción de la herida, mejorando la percepción estética con respecto de la cicatrización normal.

En los animales a los cuales se les implantó peritoneo se observó que al 8° día presentaron características compatibles con una fase de remodelación, a diferencia de las ratas que no fueron implantadas en las que al 8° día las características de cicatrización correspondieron a una fase de proliferación, lo que mostró aceleración en dicho proceso gracias a la acción de las células mesoteliales.

En el 2005, El Madbouh y col. demostraron el aumento de la angiogénesis y la mejoría de la función cardíaca en células miocárdicas infartadas trasplantadas con células mesoteliales (11). Vollmar y El Gibaly, mediante la inhibición del P53 con Pifithrin-Alfa, encontraron aceleración de la cicatrización cutánea hasta en el 97% de sus especímenes en el 10° día tras la lesión (12). En nuestro estudio se observó cicatrización completa en el grupo trasplantado con células mesoteliales al 7° día. Dioufa y Schally encontraron estimulación de la migración de fibroblastos y aceleración de la cicatrización cutánea en animales con el uso de hormona liberadora de hormona de crecimiento y sus agonistas (13). En nuestro estudio con mesotelio también se observó la estimulación de fibroblastos. Existen también estudios en ratas con factores plaquetarios derivados del plasma sanguíneo que muestran una cicatrización de hasta el 90% al 12° tras la lesión; en nuestro estudio se encontró cicatrización completa al 8° día (14). En otros estudios experimentales con laser LASH (*laser assisted scar healing*), la cicatrización fue estimulada con resultados favorables mediante la elevación del TGFB (*Transforming Growth Factor-Beta*) (15). De acuerdo a nuestra teoría y a lo observado en el presente estudio, se puede concluir que las células mesoteliales estimulan la cicatrización cutánea debido a sus características histológicas, quimiotácticas y de plasticidad, que actúan como mediadores de la inflamación y aceleradores en el proceso de cicatrización; se observó también que al aumentar la síntesis de colágeno cutánea mejoró la percepción estética de la cicatriz. Al acelerar el proceso de cicatrización disminuyó significativamente la inflamación, con lo que el tejido lesionado se encontró menos tiempo expuesto a los agentes lesivos del medio y esto probablemente contribuyó a mejorar el resultado estético y a disminuir la morbilidad de la herida. En el análisis estadístico realizado y revisado por dos especialistas de diferentes centros hospitalarios, se pudo puntualizar que 5 de 6 variables resultaron estadísticamente significativas.

Es necesario realizar más estudios experimentales, sobre todo con un seguimiento más largo y con una población mayor, para ver los resultados de la cicatriz en periodos más tardíos de seguimiento. En humanos, el uso de células mesoteliales podría ser una alternativa segura y barata para estimular la cicatrización. Es prioritario el apoyo a la nueva generación de investigadores porque solo así estará garantizado el desarrollo de nuevas y mejores terapias.

Conclusiones

El autotrasplante de células mesoteliales peritoneales en heridas cutáneas de espesor total aceleró la cicatrización, aumentó significativamente los niveles de colágeno, disminuyó la retracción y la inflamación, y mejoró las características estéticas de la cicatriz en ratas. Las células mesoteliales peritoneales actuaron como potentes estimuladores de la cicatrización cutánea, moduladores de la inflamación e inhibidores de la retracción cutánea, mejorando el aspecto estético de la cicatriz.

Agradecimientos

Al Bioterio de La Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, al personal del Laboratorio de Capacitación Quirúrgica “Karl Storz” The American British Cowdray Medical Center I.A.P. y al Dr. Raúl Esparza Sigala.

Dirección del autor

Dr. Raúl Esparza Iturbide
A.P. 140 Fresnillo Zacatecas
México C.P. 99000
e-mail esparza_iturbide_raul@hotmail.com

Bibliografía

1. **G S DiZerega:** Biochemical events in peritoneal tissue repair. *The European journal of surgery. Supplement. Acta chirurgica.* 1997;(577):10-16.
2. **Whawell SA, Wang Y.:** Localization of plasminogen activator inhibitor-1 production in inflamed appendix by in situ mRNA hybridization. *J Pathol* 1993; 169: 67-71.
3. **Scott-Coombes DM, Whawell SA.:** The human intra-peritoneal fibrinolytic response to elective surgery. *Br J Surg.* 1994; 81: 1472-1474.
4. **Witkowicz J.:** Mesothelial cell transplantation. *Pol Arch Med Wewn.* 2008;118(5):307-313.
5. **Di Paolo N, Sacchi G, Del Vecchio MT, Nicolai GA, Brardi S, Garosi G.:** State of the art on autologous mesothelial transplant in animals and humans. *Int J Artif Organs.* 2007;30(6):456-459.
6. **Mutsaers SE.:** Mesothelial cells their structure, function and role in serosal repair. *Respirology.* 2002;7(3):171-191.
7. **Herrick SE, Mutsaers SE.:** The potential of mesothelial cells in tissue engineering and regenerative medicine applications. *Int J Artif Organs.* 2007;30(6):527-540.
8. **Diegelmann RE, Evans MC.:** Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci.* 2004, 1;9:283-289.
9. **Grazul-Bilska AT, Johnson ML.:** Wound healing: the role of growth factors. *Drugs Today (Barc).* 2003; 39(10): 787-800.
10. **Guo S, Dipietro LA.:** Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res.* 2010, 5: 219-229.
11. **Ibrahim Elmadbouh, Ying Chen.:** Mesothelial cell transplantation in the infarct scar induces neovascularization and improves heart function. *Cardio Res* 2005, 68(2):307-317.
12. **B. Vollmar and A. M. El-Gibaly:** Acceleration of Cutaneous Wound Healing by Transient p53 Inhibition. *Lab Invest* 2002, 82:1063-1071.
13. **Dioufa, N., Schally A.V.:** Acceleration of wound healing by growth hormone-releasing hormone and its agonists. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010, 107 (43) : 8611-18615.
14. **De Acosta M., Porres Aguilar M.:** Actualización bibliográfica sobre el uso de preparaciones ricas en plaquetas en la cicatrización de heridas. *Cir.plást. iberolatinoam.* 2010, 36 (3): 231-236.
15. **Mordon, S., Trelles, M.A.:** Ventajas de la cicatrización cutánea asistida por láser (LASH). *Cir. plást. iberolatinoam.*, 2011,37 (4): 387-392.