

Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contienen extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación

Treatment of burns wound with films obtained by gamma radiation containing Caesalpinia spinosa in rabbits

Nancy Rojas¹, Rosa Avilés², Eglinton Villacaqui³, Elizabeth Neira¹, Willy Ramos⁴, Julio Santiago^{2,5}

RESUMEN

OBJETIVO. Evaluar el efecto cicatrizante de hidrogeles obtenidos con radiación gamma embebidos con extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*).

MATERIAL Y MÉTODOS. Se fabricaron hidrogeles de quitosano-alcohol polivinílico embebidos en extracto hidroalcohólico de tara (Q-APV-EHAT), que se aplicaron sobre quemaduras en piel de conejas, para evaluar su capacidad cicatrizante frente al hidrogel solo, al extracto solo y nitrofurural. La cicatrización de las heridas fue evaluada macroscópicamente y microscópicamente (biopsias) y con la medición del área y el porcentaje de retracción de la quemadura. La evaluación se realizó a los 7, 14 y 21 días posquemadura.

RESULTADOS. El día 7 de tratamiento se apreció diferencia estadísticamente significativa para el área de las heridas de los grupos ($p = 0,002$). El área de las heridas tratadas con Q-APV-EHAT fue significativamente menor que la tratada con nitrofurural ($p = 0,001$). Para el día 14, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ($p = 0,063$). Para el día 21 existió diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos ($p = 0,005$), la piel tratada con Q-APV-EHAT tuvo significativamente menor área que la tratada con nitrofurural ($p = 0,005$) y la piel tratada con extracto de tara, significativamente menor área que la tratada con nitrofurural ($p = 0,033$). La mayor retracción de las heridas, confirmada por microscopía se obtuvo con el Q-APV-EHAT tanto a los 7, 14 y 21 días de tratamiento.

CONCLUSIÓN. El hidrogel de quitosano-alcohol polivinílico embebido en extracto hidroalcohólico de tara mostró significativamente mayor actividad cicatrizante que el extracto hidroalcohólico de tara solo, las películas de quitosano (sin extracto de tara) y el nitrofurural.

PALABRAS CLAVE. Tara, *Caesalpinia spinosa*, hidrogel de quitosano, cicatrización.

SUMMARY

OBJECTIVE. Evaluate the healing effect of hydrogels obtained by gamma radiation imbibed with hydroalcoholic extract of *Caesalpinia spinosa*, 'tara' in experimental animals.

MATERIAL AND METHODS. Experimental study. Hydroalcoholic extracts, chitosan-poly (vinyl alcohol) hydrogels films imbibed with hydroalcoholic extract of *C. spinosa* (HA-Q-CS) were made. This hydrogel was applied on burns in female rabbit's skin to evaluate its healing effects versus hydrogel alone, *C. spinosa* extract and nitrofurural. Healing of wounds was evaluated, macroscopically a microscopically (biopsies) as well the evaluation of the area and

percent of burn retraction. The evaluations were performed on days 7, 14 and 21 post burned.

RESULTS. At the day 7 of treatment, a significant statistic difference was observed for the burns area of the groups ($p = 0,002$). The area of wounds treated with HA-Q-CS was significantly lower than those treated with nitrofurural ($p = 0,001$). On day 14 there was no significant statistic difference between groups ($p = 0,063$). On day 21 there was a significant statistic difference between treatments ($p = 0,005$), the skin treated with HA-Q-CS had an area significantly lower than the treated with furacin ($p = 0,005$); Also, the skin treated with ET had a significantly lower area than the skin treated with nitrofurural ($p = 0,033$). The major wounds retraction confirmed with the microscopy was obtained with HA-Q-CS at the day 7, 14 and 21 of treatment.

CONCLUSION. HA-Q-CS showed a significantly major effect than the hydroalcoholic extract of *C. spinosa* alone, the chitosan-poly vinyl alcohol (without *C. spinosa*) and the nitrofurural.

KEY WORDS. Tara, *Caesalpinia spinosa*, chitosan-poly vinyl alcohol hydrogels, healing.

- 1 Instituto de Patología. Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Lima, Perú.
- 2 Facultad de Química e Ingeniería Química. UNMSM. Lima, Perú.
- 3 Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM. Lima, Perú.
- 4 Instituto de Investigaciones Clínicas. UNMSM. Lima, Perú.
- 5 Dirección de Investigación y Desarrollo. Instituto Peruano de Energía Nuclear. Lima, Perú.

INTRODUCCIÓN

Se define quemadura como la pérdida de sustancias de la superficie corporal por destrucción de la piel y tejido subcutáneo, ocasionada por agentes térmicos, como el calor y frío, agentes químicos, electricidad o radiaciones.¹ Todas las quemaduras producen destrucción de estructuras anatómicas y funcionales normales de la piel y su proceso de reparación puede ser ordenado dentro de un tiempo adecuado en el que se restaura la integridad anatómica y funcional de los tejidos o pueden no seguir un proceso de reparación ordenado y no restaurar la integridad anatómica ni funcional en un tiempo máximo de 30 días.² La curación de las quemaduras, al igual que la de una herida, se define como la técnica que favorece al tejido de cicatrización hasta conseguir su remisión. Es un proceso complejo, que clásicamente se divide en tres etapas: 1) las células inflamatorias migran hacia el tejido que rodea la lesión; 2) aparecen los fibroblastos y comienzan a producir fibras de colágeno, lo que da más resistencia a la tracción al tejido conectivo, al mismo tiempo se forman numerosos capilares que nutren y oxigenan, mientras comienza la aparición de células epiteliales en el borde de la herida bajo la costra; 3) se forma nuevo epitelio y la herida se considera curada.³

Actualmente, existen dos formas para realizar la curación; la tradicional y la avanzada. La curación tradicional es la que se realiza en ambiente seco, utiliza apósitos pasivos, usa tópicos (antisépticos, antimicrobianos y otros) y es de frecuencia diaria o mayor. La curación avanzada es la que se realiza en un ambiente húmedo fisiológico, mediante la utilización de apósitos activos, no usa tópicos en lo posible y su frecuencia depende de las condiciones locales de la herida. El ambiente húmedo previene la desecación celular, estimula la angiogénesis y la síntesis de colágeno, favorece la migración celular y la comunicación intercelular; todo esto se traduce en menos dolor, aislamiento térmico, desbridamiento autolítico, velocidad de cicatrización y calidad de cicatriz.³

Un apósito ideal debe mantener un ambiente húmedo fisiológico, ser una barrera aislante y protectora, permitir el intercambio gaseoso, circulación sanguínea adecuada y remover secreciones. Los apósitos con hidrogeles (materiales poliméricos entrecruzados en forma de red tridimensional) están considerados en la curación avanzada,⁴ actúan como barrera eficaz para evitar que las bacterias ambientales infecten la herida.⁵ Los hidrogeles tienen la capacidad de absorber agua y cualquier sustancia diluida en ella. De esta manera, es posible introducir en los hidrogeles componentes activos que tengan reconocida actividad biológica para acelerar la cicatrización.⁶ Entre los polímeros más utilizados en la preparación de hidrogeles para la curación de heridas están el quitosano (Q)⁷ y el alcohol polivinílico (APV)⁸ debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad.

El quitosano es un polisacárido, que se obtiene por desacetilación de la quitina (obtenida a partir de los desechos de crustáceos), y está compuesto de dos subunidades, D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, unidas por un enlace glucosídico β -(1,4). Posee carácter antimicrobiano debido principalmente a la presencia de grupos amino cargados positivamente, que interaccionan con la membrana celular de las bacterias, cargada negativamente, y provocan el deterioro de las proteínas y de otros componentes de la membrana de los microorganismos.⁶ Por su parte, el APV es un polímero sintético, obtenido por hidrólisis ácida o básica del acetato de polivinilo, muy utilizado en la preparación de películas por sus propiedades elásticas y mecánicas y su permeabilidad.

La formación de hidrogeles a partir de quitosano y APV puede realizarse por métodos físicos o químicos. Los agentes químicos más utilizados para el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas son el glutaraldehído y la genipita (un compuesto natural). Entre los métodos físicos están el enfriamiento-calentamiento y el uso de la radiación gamma. El método que mejor se presta para la obtención de películas en aplicaciones biomédicas es el entrecruzamiento por radiación gamma, tanto por la estabilidad mecánica y grado de hinchamiento como por la ausencia de residuos tóxicos.⁹⁻¹¹

Para incrementar las propiedades biológicas de las películas de quitosano-APV (Q-APV), se ha introducido diferentes aditivos como hormonas de crecimiento¹² y fibroblastos¹³; también se ha utilizado extractos de plantas, como el *Aloe vera* en APV, polivinil pirrolidona,¹⁴ fucoidán (polisacárido de algas)¹⁵ y el látex de la sangre de grado (*Croton lechleri*).^{6,16,17}

La tara, *Caesalpinia spinosa*, es una planta originaria del Perú, rica en taninos, utilizada desde la época prehispánica. En la medicina tradicional, es apreciada por sus propiedades astringente, cicatrizante y antidisentérica. Popularmente, se usa en la amigdalitis, en forma de gárgaras, como antipirético, antigripal y cicatrizante.¹⁸

En nuestro laboratorio se ha demostrado que el extracto etanólico de la fibra de tara tiene actividad antimicrobiana con valores de concentración inhibitoria mínima de 5 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y de 10 mg/mL para *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.¹⁹

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto cicatrizante de hidrogeles obtenidos con radiación gamma embebidos con extracto hidroalcohólico de tara (EHAT) en animales de experimentación. Para esto, se estudia su efecto en el tratamiento de quemaduras utilizando películas de Q-APV embebidas en extracto etanólico de la fibra de tara. Igualmente, se evaluaron las películas sin extracto, extracto solo y como control positivo se utilizó nitrofuril (Furacin[®], crema comercial para el tratamiento de quemaduras).

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio experimental realizado en el Instituto de Patología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Preparación de películas

Las películas de Q-APV se prepararon a partir de: a) solución acuosa de quitosano al 1%, en solución al 1% de ácido acético; b) solución acuosa al 15% de APV. Estas dos soluciones se mezclaron en proporción 4:6 y se irradiaron con radiación gamma a 15 kGy. Luego de evaporar los líquidos, las películas se enjuagaron con agua bidestilada y se embobieron con las soluciones obtenidas a partir de las fracciones de tara.

La fracción que se utilizó en el estudio de cicatrización fue el extracto etanólico del polvo fino obtenido de la vaina de tara, procedente de Huamanga, Ayacucho. Este extracto seco fue resuspendido en una solución hidroalcohólica (10%), la que fue filtrada y centrifugada. Finalmente, las películas de Q-APV 1,5 x 1,5 cm fueron sumergidas en estas soluciones por 10 minutos, luego envasadas en bolsas de polietileno y selladas al vacío. Estas películas fueron preparadas un día antes del inicio de los experimentos.

Evaluación in vivo de la cicatrización de heridas provocadas por quemadura

Se utilizaron ocho conejas de tres meses de edad, a las que se les depiló el lomo, se les aplicó anestesia general (10 mg/kg de ketamina) y lidocaína, como anestésico local, antes de quemarlos en una superficie de 1,5 x 1,5 cm, a 110 °C, durante 15 segundos. Cada coneja tuvo cuatro quemaduras (1-4):

- ▲ Quemadura 1: tratada con una película de Q-APV.
- ▲ Quemadura 2: tratada con una película de Q-APV + EHAT (Q-APV-EHAT).
- ▲ Quemadura 3: tratada con EHAT.
- ▲ Quemadura 4: tratada con nitrofuril como control.

A los 7, 14 y 21 días se hicieron las evaluaciones macroscópicas que consistieron en tomar las medidas de las heridas, observar sus características morfológicas y biopsiarlas para el posterior estudio histológico. Para determinar el efecto en la cicatrización de las quemaduras por el tratamiento, se analizó el área y el porcentaje de retracción de las quemaduras, que fue obtenido con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de retracción de la quemadura} = \frac{(A_0 - A_t) \times 100}{A_0}$$

Donde: A_0 es el área de la quemadura original; A_t es el área de la herida en el momento de la biopsia. Para fines del estudio se considera que a medida que pasan los días debe producirse una reducción del área de las heridas.

Estudio histológico

Las biopsias de piel (obtenidas con punch de 3 mm de diámetro) fueron fijadas en formol neutro, incluidas en parafina, cortadas con micrótopo a 5 μ m de espesor y coloreadas con hematoxilina y eosina. El análisis de los cortes se realizó con un microscopio de luz de campo claro. Las fotografías de las zonas de interés se tomaron a 50x y 400x.

Análisis de datos

Se realizó con el programa estadístico SPSS versión 17.0. La estadística descriptiva se realizó mediante el cálculo de medidas de tendencia central y de dispersión. Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la cicatrización de las heridas, se empleó análisis de varianza ANOVA de un factor, previa comprobación de la homogeneidad de las varianzas con el test de Levene; para determinar si existió diferencia estadística entre tratamientos, se realizó análisis a posteriori con la prueba de Tukey. Los cálculos se realizaron con un nivel de confianza de 95%.

RESULTADOS

Cicatrización de las heridas

El día 7 de tratamiento se apreció diferencia estadísticamente significativa para el área de las heridas de los grupos ($p = 0,002$) (Tabla 1). El área de las heridas tratadas con

Tabla 1. Área promedio de las heridas los días 7, 14 y 21 de tratamiento con Q-APV, Q-APV-EHAT, EHAT y nitrofuril.

Tratamiento	Área promedio	Desviación estándar
▲ Día 7		
– Q-APV	1,87	0,27
– Q-APV-EHAT*	1,66	0,23
– EHAT	1,84	0,25
– Nitrofuril	2,05	0,23
▲ Día 14		
– Q-APV	1,03	0,49
– Q-APV-EHAT	0,82	0,24
– EHAT	0,93	0,42
– Nitrofuril	1,12	0,37
▲ Día 21		
– Q-APV	0,60	0,48
– Q-APV-EHAT*	0,24	0,27
– EHAT*	0,35	0,24
– Nitrofuril	0,77	0,42

* Diferencia estadísticamente significativa con el grupo que recibió nitrofuril.

Q-APV: quitosano-alcohol polivinílico.

EHAT: extracto hidroalcohólico de tara.

Q-APV-EHAT: quitosano-alcohol polivinílico embebido en extracto hidroalcohólico de tara.

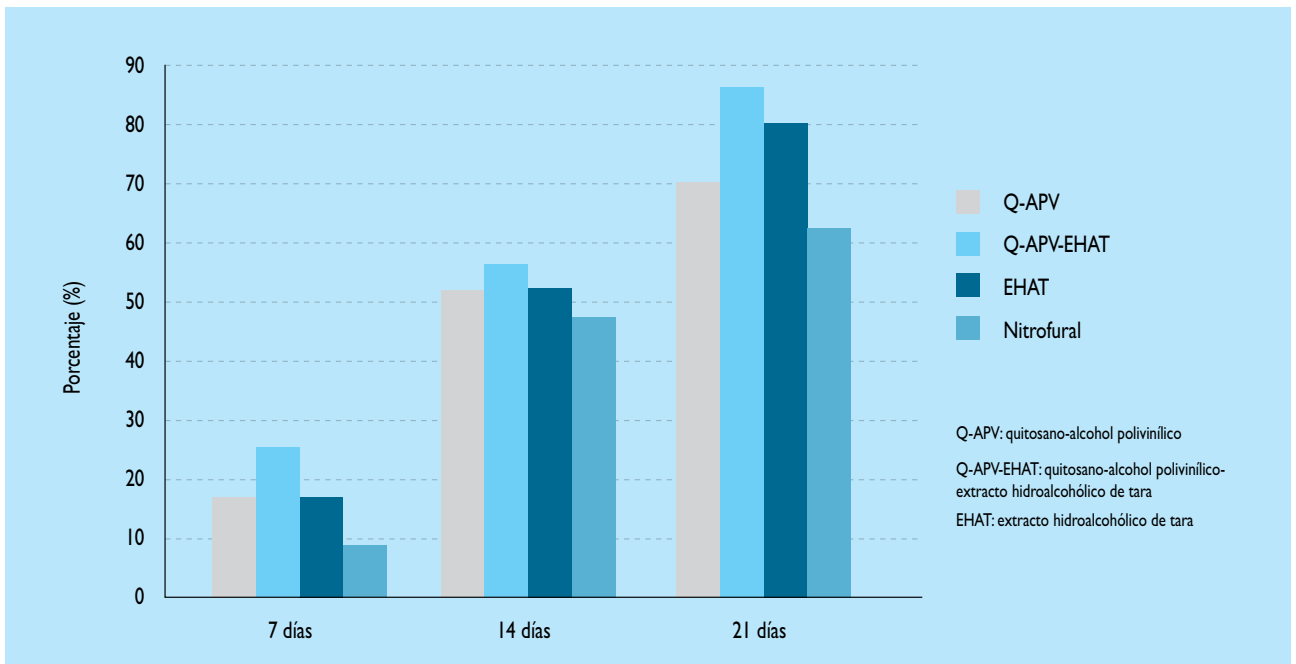


Figura 1. Porcentaje de retracción de las quemaduras (cicatrización) a los 7, 14 y 21 días.

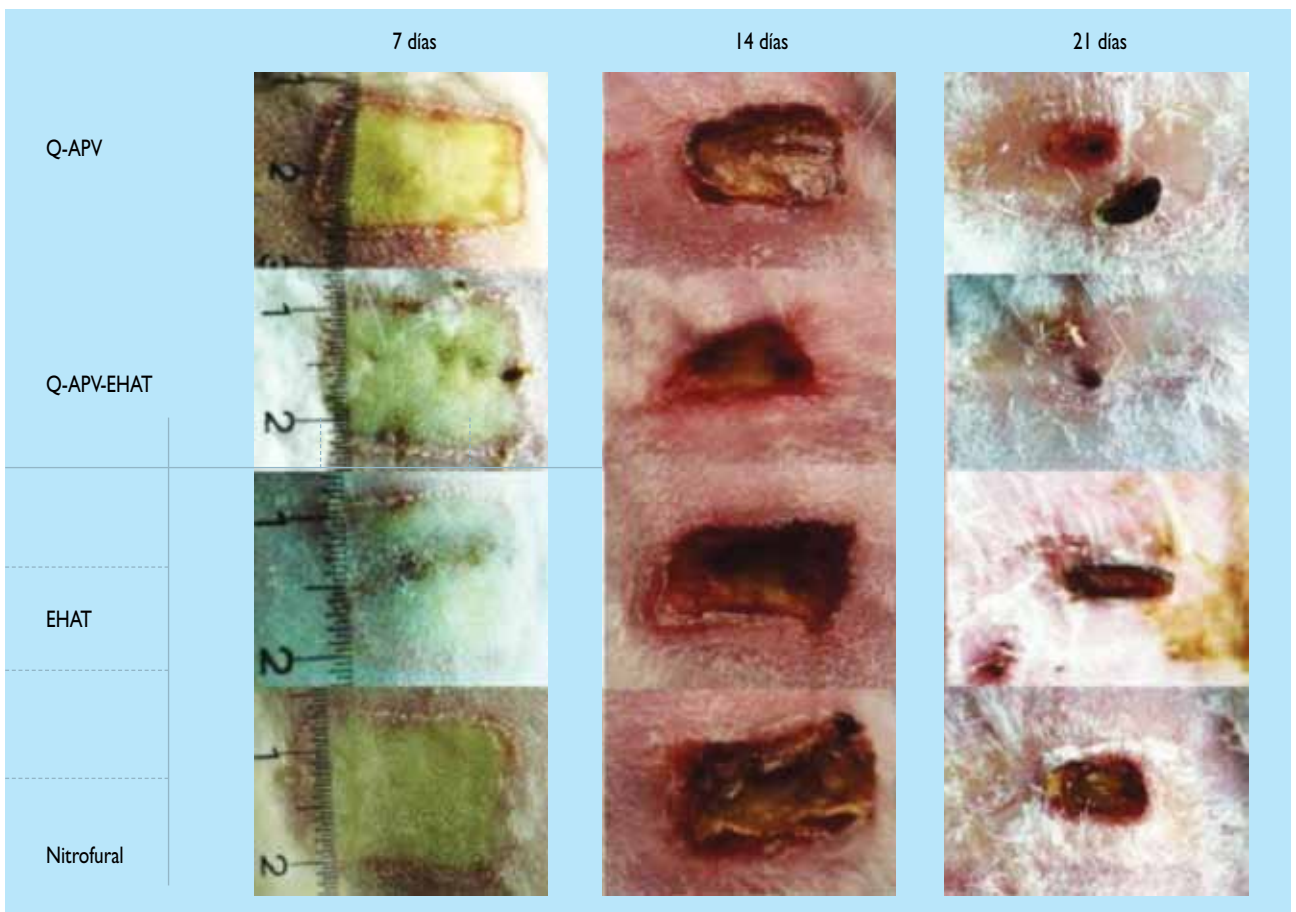


Figura 2. Fotografías de las quemaduras en el día 7, 14 y 21 luego de los tratamientos con Q-APV (quitosano-alcohol polivinílico), Q-APV-EHAT (quitosano-alcohol polivinílico embebido en extracto hidroalcohólico de tara); EHAT (extracto hidroalcohólico de tara) y nitrofurantoin.

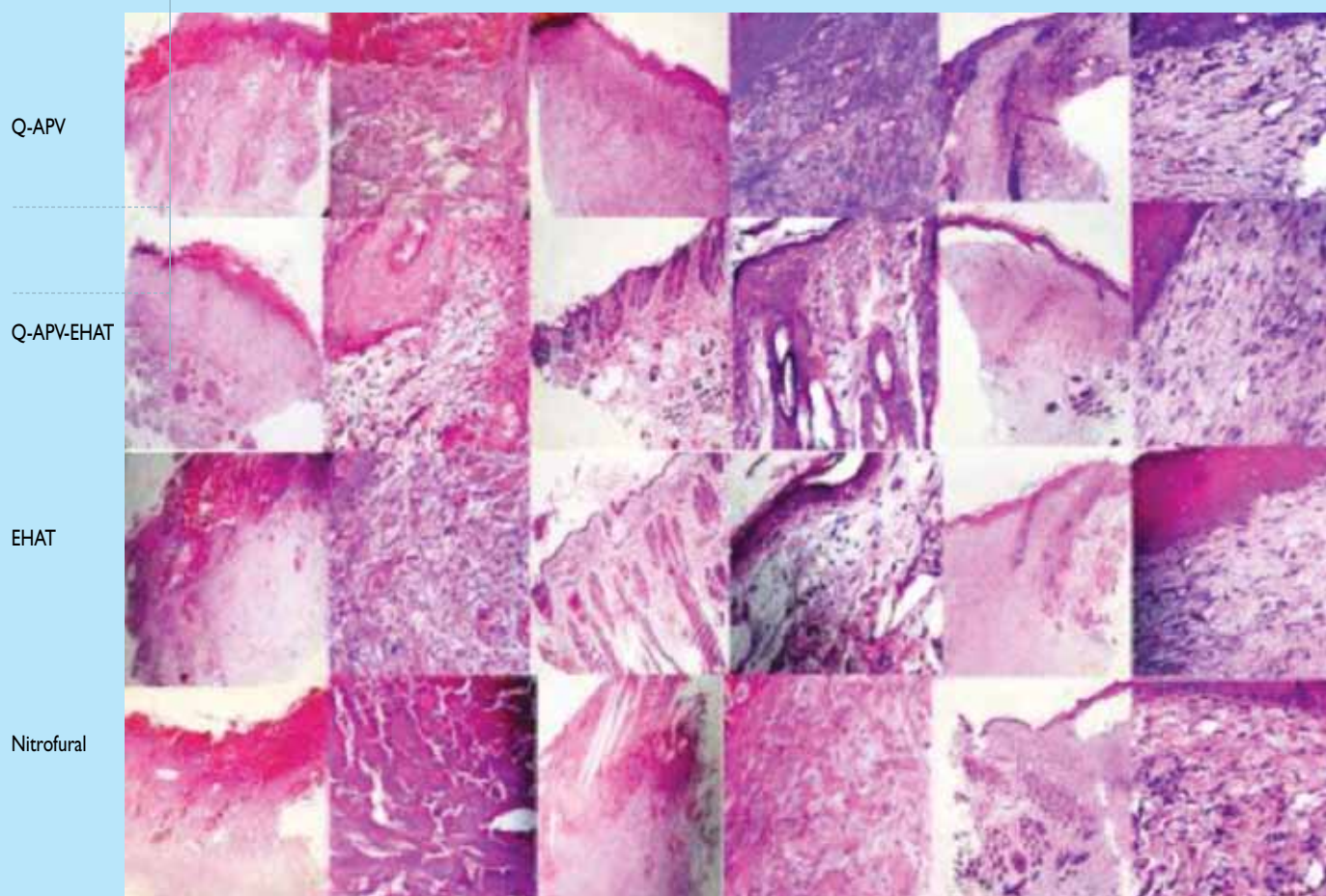


Figura 3. Fotomicrografías de los cortes histológicos de las biopsias tomadas a los 7, 14 y 21 días del tratamiento con Q-APV (quitosano-alcohol polivinílico), Q-APV-EHAT (quitosano-alcohol polivinílico embebido en extracto hidroalcohólico de tara); EHAT (extracto hidroalcohólico de tara) y nitrofuril.

Q-APV-EHAT fue significativamente menor que el de las tratadas con nitrofuril ($p = 0,001$). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre el resto de tratamientos. Para el día 14, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ($p = 0,063$).

Para el día 21, existió diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos ($p = 0,005$), la piel tratada con Q-APV-EHAT tuvo significativamente menor área que la tratada con nitrofuril ($p = 0,005$). Asimismo, la piel tratada con EHAT tuvo significativamente menor área que la tratada con nitrofuril ($p = 0,033$). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre el resto de tratamientos. Esto se muestra en la Tabla 1.

Para la retracción de las heridas, se observó que el mayor efecto lo obtuvo el Q-APV-EHAT, a los 7, 14 y 21 días de tratamiento. Esto se muestra en las Figuras 1 y 2.

Observación histológica

El patrón de cicatrización de las quemaduras, con los diferentes tratamientos, se estudió mediante el examen histológico de biopsias a los 7, 14 y 21 días (Figura 3).

Al sétimo día, el grupo tratado con nitrofuril muestra epidermis y parte de dermis totalmente destruida e interrumpida, herida llena de material necrótico inflamatorio agudo y exudado (Figura 3). Las heridas tratadas con Q-APV-EHAT, EHAT y Q-APV muestran debajo de la costra zonas de reepitelización, que se diferencian una de otras, en el orden mencionado, por la cantidad de infiltrado inflamatorio, el número de estratos del nuevo epitelio, la formación de nuevos vasos sanguíneos y la actividad de fibroblastos en la dermis (Figura 3).

El estudio histológico de las biopsias tomadas a los 14 días muestran reepitelización en todos los tratamientos.

El proceso inflamatorio continúa mientras que el tejido conectivo de la dermis papilar es más activo en las heridas tratadas con Q-APV-EHAT y EHAT observándose también mayor actividad celular cerca de los folículos pilosos, las heridas tratadas con nitrofuril muestran menor actividad celular la imagen histológica es muy parecida a lo observado al sétimo día en las heridas tratadas con EHAT. Al día 21, las heridas tratadas con Q-APV-EHAT han mejorado notablemente, la reepitelización se ha completado y se puede visualizar una epidermis intacta y los tejidos subyacentes cicatrizados, solo se puede observar una mínima cantidad de células del componente inflamatorio a nivel subepitelial, mientras que las quemaduras tratadas con EHAT, Q-APV y nitrofuril muestran todavía áreas pequeñas sin cicatrizar y las biopsias estudiadas muestran aun actividad inflamatoria.

La formación de las papilas epidérmicas es importante en el proceso de cicatrización para asegurar el anclaje del neoepitelio a la dermis, estas son mínimas aun al día 21 en las heridas tratadas con nitrofuril, y llegan al máximo en las tratadas con Q-APV-EHAT y EHAT al día 14.

En conjunto, los hallazgos macroscópicos y microscópicos sugieren que los niveles de curación de las heridas puede ser ordenada como sigue Q-APV-EHAT, EHAT, Q-APV, nitrofuril.

DISCUSIÓN

Las quemaduras tienen un proceso complejo de curación, causan molestias severas y son propensas a infecciones y otras complicaciones.²⁰ Diversos estudios han investigado los efectos de la aceleración de la cicatrización de heridas por quitina y quitosano en modelos animales con resultados concluyentes.^{6,20,21}

El presente estudio muestra que la aplicación de apósitos de Q-APV-EHAT sobre quemaduras realizadas en la piel de conejas reduce significativamente el área de las heridas en el tiempo en comparación con los otros tratamientos, como el hidrogel solo (Q-APV), EHAT y el nitrofuril. En el estudio histológico, desde el día 7, se observa en las quemaduras tratadas con Q-APV-EHAT mayor actividad de los fibroblastos y menor número de células inflamatorias. También, el tratamiento con Q-APV-EHAT permitió a la piel quemada resistir los efectos adversos del trauma y la infección, ya que su contenido de ácido tánico mejora el efecto del quitosano; en conjunto acelerarían la migración de células inflamatorias secretoras de factores proinflamatorios y de crecimiento en una fase muy temprana de la curación.¹⁵

La aceleración del proceso de cicatrización de la herida cuando se usa hidrogel de Q-APV-EHAT puede atribuirse a

que este incluye en su composición Q-APV, el que, a su vez, contiene N-acetil-D-glucosamina,²³ componente importante de la matriz extracelular de los tejidos; asimismo, su alta solubilidad y rápida absorción por los tejidos permite la aceleración de la cicatrización de la herida.²⁴ Por otro lado, el quitosano se convierte en una fuente continua de N-acetil-D-glucosamina, siempre y cuando la herida contenga células inflamatorias que liberan lisozima. Las reacciones inflamatorias y, por lo tanto, la liberación de lisozima continúa hasta que la herida esté curada;²⁰ a los 14 días, este componente disminuye para dar paso a la actividad de los fibroblastos, que producen colagenasa, lo que está relacionado con la remodelación de la herida en el proceso de curación.

Una limitación para el presente estudio es el número de animales participantes que, aunque es suficiente para el análisis, debería ser incrementado. Consideramos necesaria la realización de estudios a mayor escala en animales de experimentación que permitan obtener evidencias para su uso en humanos del Q-APV-EHAT.

En conclusión, el hidrogel de quitosano-alcohol polivinílico embebido en extracto hidroalcohólico de tara mostró significativamente mayor actividad cicatrizante que el extracto hidroalcohólico de tara solo, las películas de quitosano (sin extracto de tara) y el nitrofuril.

AGRADECIMIENTOS

Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por el financiamiento recibido a través del proyecto multidisciplinario PEM2009B02 y proyecto FEDU 2009.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Broche F, Céspedes E, Saldaña A, Cruz Pérez A. La enfermedad por quemaduras como modelo de respuesta inflamatoria sistémica. *Rev Cub Invest Biomed.* 1999;18(2):77-85.
2. Ramírez R, Dagnino B. Curación de heridas: antiguos conceptos para aplicar y entender su manejo avanzado. *Cuad Cir. (Valdivia)* 2006;20(1):92-99.
3. Andrades P, Sepúlveda S, González J. Curación avanzada de heridas. *Rev Chil Cir.* 2004;56(4):396-403.
4. Kirker K, Luo Y, Nielson J, Shelby J, Prestwich G. Glycosaminoglycan hydrogel films as bio-interactive dressings for wound healing. *Biomaterials.* 2002;23:3661-3671.
5. Hubbell J. Hydrogel systems for barriers and local drug delivery in the control of wound healing. *J. Control. Release.* 1996;39:305-313.
6. León K, Santiago J. Propiedades antimicrobianas de películas de quitosano-alcohol polivinílico embebidas en extracto de sangre de grado. *Rev Soc Quím Perú.* 2007;73(3):158-165.
7. Ishihara M, Nakanishi K, Ono K, Sato M, Kikuchi M, Saito Y, Yura H, et al. Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process. *Biomaterials.* 2002;23:833-840.
8. Bohl Masters K, Leibovich S, Belem P, West J, Poole-Warren L. Effects of nitric oxide releasing poly (vinyl alcohol) hydrogel dressings on dermal wound healing in diabetic mice. *Wound Repair Regeneration.* 2002;10:286.
9. Santiago J. Aplicación de radiación gamma para la obtención de nuevos biomateriales para el tratamiento de heridas. *Ciencia Tecnología.* 2008;4:26-29.

10. Carhuapoma W, Santiago J. Preparación de hidrogeles de quitosano-PVA por radiación gamma, Rev Soc Quím Perú. 2005;71:185-192.
11. Carhuapoma W, Santiago J. Caracterización de hidrogeles de quitosano-alcohol polivinílico obtenidos por radiación gamma, Rev Iberoamer Polím. 2005;6:333-346.
12. Alemdaroglu C, Degim Z, Celebi N, Zor F, Öztürk S, Erdogan D. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. Burns, 2006;32:319-327.
13. Koyano T, Minoura N, Nagura M, Kobayashi K. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on PVA/chitosan-blended hydrogels, J Biomed Mater Res. 1998;39:486-490.
14. Ran K, Chang Y. Preparation and characterization by radiation of poly (vinyl alcohol) and poly (N-vinylpyrrolidone) hydrogels containing *Aloe vera*. J Appl Polym Sci. 2003, 90, 1477-1485.
15. Sezer A, Hatipoglu F, Cevher E, Ogurtan Z, Bas LB, Akbuga J. Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: preparation and in vitro/in vivo evaluation. AAPS Pharm Sci Tech. 2007;8(2):E1-E8.
16. Ubillus R, Jolad S, Bruening R, Kernan M, King S, Sesin D. SP-303, An antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (sangre de drago), Phytomedicine. 1994;1:77-106.
17. Rojas N, Leon K, Villacaqui E, Santiago J. Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma conteniendo sangre de grado. Reporte preliminar. Informe Científico Tecnológico, Instituto de Energía Nuclear. 2007:211-215.
18. De la Cruz P. Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa* - *Caesalpinia tinctoria*. Rev Inst investig Fac Minas Metal Cienc Geogr. 2004;7(14):64-73.
19. Aponte J, Noceda J, León J, Neira E, Rojas N, Villacaqui E, Avilés R, Santiago J. Actividad antimicrobiana y cicatrizante de extractos de *Caesalpinia spinosa* 'tara'. Libro de resúmenes del XIX Reunión Científica ICBAR 2010 UNMSM. Lima, Perú.
20. Alsarra I. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds. Int J Biol Macromol. 2008;45:16-21.
21. Okamoto Y, Tomita T, Minami S, Matsuhashi A, Kumazawa N. Effects of chitosan on experimental abscess with *Staphylococcus aureus* in dogs. J Vet Med Sci. 1995;57:765-767.
22. Choi Y, Lee S, Hong S, Lee Y, Song K, Park M. Studies on gelatin-based sponges. Part III: a comparative study of cross-linked gelatin/alginate, gelatin/hyaluronate and chitosan/hyaluronate sponges and their application as a wound dressing in full-thickness skin defect of rat. J Mater Sci Mater Med. 2001;12:67-73.
23. Prabakaran M, Mano J. Stimuli-responsive hydrogels based on oligosaccharides incorporated with thermo-responsive polymers as novel biomaterials. Macromol Biosci. 2006;8:991-1008.

Correspondencia a:
Mg. Nancy Rojas Morán.
Av. Grau 755. Lima I, Perú.
d1010112@yahoo.com

Fecha de recepción: 16-1-2011
Fecha de aceptación: 27-1-2011