



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

PETRÓLEOS MEXICANOS
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD
SERVICIO DE CIRUGÍA PLÁSTICA Y RECONSTRUCTIVA

**UNA ALTERNATIVA AL TRATAMIENTO DE QUEMADURAS DE ESPESOR
PARCIAL MEDIANTE EL EMPLEO DE UN NOVEDOSO SUBSTITUTO
DÉRMICO, CONSTRUIDO CON UN BIOANDAMIO BIOABSORBIBLE Y
CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES AISLADAS DEL TEJIDO
ENDOMETRIAL A TRAVÉS DE UN NUEVO MÉTODO.**

T E S I S D E P O S G R A D O

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE ESPECIALISTA EN CIRUGIA PLÁSTICA Y
RECONSTRUCTIVA**

PRESENTA:

DR. PAULO CÉSAR GONZÁLEZ MARTÍNEZ

**TUTOR DE TESIS:
DR. CUAUHTÉMOC MARQUEZ ESPRIELLA**

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios por haberme dado el amor, la fe, la fuerza, la paciencia y la sabiduría para completar este proyecto.

A mis padres Marcos y Lucero quienes me apoyaron todo el tiempo y jamás dudaron de mí. Sin ustedes no lo hubiera logrado.

A mis hermanos Marcos, Ricardo y Lucero de quienes siempre recibí un consejo verdadero y positivo. Me levantaron cuando caía.

A mi esposa Adriana quien fue mi fuente de inspiración y apoyo incondicional. Gracias por tenerme paciencia y brindarme tanto amor.

A mis amigos Churro, Arturo, Roberto, Adolfo, Juan, Edsel, Pepin, Nacho Rene y Pedro por no haberme excluido de sus fiestas, viajes y bodas aunque sabían que la mayor parte de las veces no podía ir. Gracias por esa amistad tan sólida.

A mis maestros Dr. Márquez, Dr. Gutiérrez, Dr. Cuervo, Dr. Dávila y Dra. Silva ya que sin sus enseñanzas no estaría en este nivel y es a ustedes a quienes debo mis habilidades y conocimientos en Cirugía Plástica y Reconstructiva, así mismo a mis compañeros residentes, cada uno de ustedes me retroalimentó y me hizo mejor persona.

Al Hospital Central Sur de Alta Especialidad que fue mi segunda casa por siete años y me vio evolucionar de médico general a especialista y subespecialista. Seguiré poniendo en alto el nombre de esta institución.

A todos ellos dedico esta tesis.

C O N T E N I D O

| | | |
|-------|---|----|
| I. | PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN..... | 5 |
| II. | MARCO TEORICO..... | 6 |
| III. | JUSTIFICACIÓN..... | 21 |
| IV. | OBJETIVO GENERAL..... | 22 |
| V. | TIPO DE ESTUDIO..... | 23 |
| VI. | DISEÑO..... | 24 |
| | a. DEFINICIÓN DEL UNIVERSO..... | 24 |
| | b. CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN..... | 24 |
| | c. METODOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA..... | 24 |
| | d. DEFINICIÓN DE VARIABLES..... | 25 |
| | e. MATERIAL Y METODOS..... | 25 |
| | f. TÉCNICA QUIRÚRGICA..... | 26 |
| VII. | ASPECTOS ÉTICOS..... | 29 |
| VIII. | RECURSOS Y LOGISTICA..... | 30 |
| IX. | RESULTADOS..... | 31 |
| X. | ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 36 |
| XI. | CONCLUSIONES..... | 38 |
| XII. | REFERENCIAS..... | 40 |

I. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el nivel de re-epitelización y grado de restauración que tiene el Biondamio® de células mesenquimales comparado con la colocación de apósitos de queratinocitos sobre quemaduras en porcinos?.

II. MARCO TEÓRICO:

1. INTRODUCCIÓN

La quemadura es una lesión provocada generalmente por un agente físico (fuego, vapor caliente, líquidos calientes, electricidad, productos químicos) que produce o conduce calor destruyendo la piel parcial o totalmente. El daño tisular comienza cuando la temperatura natural alcanza 44°C y progresa logarítmicamente conforme la temperatura aumenta¹.

Con respecto a la epidemiología, en México, y en algunos otros países, las quemaduras son una de las causas más frecuentes de atención médica en las salas de urgencias. Los niños y los adultos mayores son los grupos más vulnerables de la población. En México, más del 18% de los lesionados hospitalizados no sobrevive, a diferencia del 5.4% reportado en otros países. Por otra parte, si las quemaduras no ocasionan el deceso, éstas pueden producir secuelas graves².

Las quemaduras son un problema de salud pública poco estudiado en México. De hecho, no hay publicaciones que describan la epidemiología de las quemaduras fatales y no fatales. En la tabla 1 se muestra la distribución de casos nuevos de quemaduras por grupo de edad en el año 2010 según registro seminal de casos probables².

Distribución de los casos nuevos de enfermedades por grupo de edad
Según registro semanal de casos probables
Estados Unidos Mexicanos 2010
Población General

| Padecimiento | Código de la lista detallada CIE10a. Revisión | Total | Incidencia* | Grupos de edad | | | | | | | | | | | | |
|---|---|-------------------|-------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------|------------------|---------------|---|
| | | | | <1 | 1-4 | 5-9 | 10-14 | 15-19 | 20-24 | 25-44 | 45-49 | 50-59 | 60-64 | 65 y + | Ign. | |
| Oncoartritis | B73 | 15 | 0.01 | 0 | 0 | 7 | 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| Órtiga media aguda | H65.0-H65.1 | 654 034 | 603.37 | 23 618 | 110 503 | 109 054 | 69 117 | 49 760 | 45 242 | 128 511 | 36 939 | 39 819 | 16 381 | 24 444 | 646 | |
| Otras helmintiasis | B65-B67, B70-B76, B78, B79, B81-B83 | 315 505 | 291.07 | 3 878 | 56 826 | 59 382 | 37 994 | 20 173 | 17 306 | 58 686 | 11 601 | 22 055 | 8 912 | 18 619 | 73 | |
| Otras infecciones intestinales debidas a protozoarios | A07.0, A07.2, A07.9 | 81 056 | 74.78 | 3 560 | 16 191 | 13 686 | 9 568 | 5 973 | 4 582 | 13 237 | 3 991 | 4 559 | 2 329 | 3 297 | 83 | |
| Paludismo por Plasmodium falciparum | B50 | 9 | 0.01 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| Paludismo por Plasmodium vivax | B51 | 3 045 | 2.81 | 82 | 347 | 457 | 510 | 422 | 260 | 574 | 131 | 133 | 37 | 86 | 6 | |
| Paratuberculosis aguda | S/C | 553 | 1.81 | 14 | 179 | 144 | 147 | 7 | 4 | 26 | 6 | 9 | 2 | 6 | 9 | |
| Paratuberculosis y otras salmonelosis | A01.1-A02 | 120 414 | 111.09 | 486 | 3 310 | 6 983 | 10 747 | 12 192 | 12 833 | 43 920 | 9 134 | 11 544 | 3 479 | 5 671 | 115 | |
| Parotiditis infecciosa | B26 | 5 780 | 5.33 | 46 | 1 136 | 1 653 | 782 | 269 | 293 | 968 | 159 | 289 | 66 | 114 | 3 | |
| Plantón lesionado en accidente de transporte | V01-V09 | 21 657 | 19.98 | 57 | 718 | 1 087 | 1 339 | 2 496 | 2 823 | 6 810 | 1 860 | 1 910 | 803 | 1 472 | 282 | |
| Peste | A20 | 0 | 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Picadura o mordedura de insecto venenoso "abeja africanizada" | T63.4 | 9 043 | 8.34 | 98 | 831 | 944 | 822 | 748 | 902 | 2 850 | 350 | 783 | 239 | 476 | 0 | |
| Poliomielitis aguda | A80 | 0 | 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Quemaduras | T20-T32 | 123 291 | 113.74 | 1 958 | 13 530 | 7 734 | 7 525 | 6 818 | 13 113 | 41 578 | 6 947 | 11 370 | 3 614 | 6 789 | 315 | |
| Rabia | B82 | 3 | 0.0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Rubola | B06 | 79 | 0.07 | 14 | 25 | 14 | 8 | 6 | 3 | 6 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | |
| Rubola congénita* | P35.0 | 2 | 0.0 | 1 | 1 | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | 0 | |
| Sarampión | B05 | 1 | 0.0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Shigelosis | A03 | 11 378 | 10.50 | 924 | 2 548 | 1 322 | 922 | 734 | 826 | 1 950 | 632 | 658 | 309 | 544 | 9 | |
| Sifilis adquirida** | A51-A53 | 2 160 | 2.03 | N.A. | 3 | 3 | 11 | 242 | 439 | 1 054 | 161 | 154 | 44 | 49 | 0 | |
| Sifilis congénita** | A50 | 94 | 0.09 | 94 | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | 0 | |
| Síndrome coagulacionista | S/C | 1 761 | 1.63 | 1 337 | 233 | 66 | 23 | 23 | 12 | 33 | 9 | 14 | 5 | 2 | 4 | |
| Síndrome de inmunodeficiencia adquirida | B20-B24 | 6 410 | 5.91 | 35 | 47 | 22 | 30 | 163 | 648 | 4 108 | 574 | 562 | 113 | 104 | 4 | |
| Síndrome Severo Agudo Respiratorio | U04.9 | 0 | 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Tetanos | B88 | 302 | 0.28 | 7 | 48 | 42 | 36 | 39 | 27 | 45 | 15 | 22 | 7 | 13 | 1 | |
| Tetanos neonata** | A34, A35 | 41 | 0.04 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 8 | 7 | 8 | 2 | 13 | 0 | |
| Tifo epidémico | A75.0 | 1 | 0.0 | 1 | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | 0 | |
| Tifo munitio | A75.2 | 27 | 0.03 | 0 | 3 | 6 | 2 | 1 | 1 | 8 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 | |
| Tos ferina | A37 | 60 | 0.06 | 1 | 1 | 4 | 13 | 2 | 5 | 20 | 5 | 6 | 0 | 1 | 4 | |
| Tuberculosis meningea | A17.0 | 107 | 0.10 | 81 | 9 | 1 | 2 | 3 | 2 | 8 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| Tuberculosis otras formas | A17.1, A17.8, A17.9, A18-A19 | 228 | 0.21 | 3 | 8 | 8 | 7 | 20 | 36 | 95 | 10 | 21 | 10 | 10 | 0 | |
| Tuberculosis respiratoria | A15-A16 | 3 051 | 2.82 | 15 | 91 | 144 | 143 | 220 | 239 | 1 127 | 203 | 372 | 155 | 341 | 1 | |
| Tumor maligno de mama | C50 | 15 795 | 14.57 | 34 | 111 | 125 | 219 | 935 | 1 367 | 5 300 | 1 421 | 2 627 | 1 029 | 2 617 | 10 | |
| Tumor maligno del cuello del útero** | C53 | 8 545 | 7.88 | 3 | 6 | 6 | 9 | 32 | 42 | 2 122 | 1 379 | 2 348 | 938 | 1 606 | 54 | |
| Tumor maligno del cuello del útero** | C53 | 3 483 | 3.26 | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | 17 | 68 | 1 183 | 541 | 762 | 328 | 580 | 4 |
| Tricomoniasis urogenital | A59.0 | 1 24 310 | 114.89 | 26 | 158 | 343 | 859 | 10 399 | 22 890 | 67 590 | 11 767 | 7 362 | 1 423 | 1 326 | 167 | |
| Quisuras, gastritis y duodenitis* | K25-K29 | 1 564 669 | 1 763.27 | N.A. | N.A. | N.A. | 80 353 | 128 063 | 158 843 | 540 924 | 160 554 | 220 116 | 96 731 | 177 399 | 1 686 | |
| Variola | B01 | 237 735 | 219.32 | 14 920 | 81 758 | 64 096 | 25 514 | 13 397 | 12 382 | 22 763 | 988 | 968 | 268 | 653 | 38 | |
| Violencia intrafamiliar | Y07.0-Y07.2 | 46 057 | 42.49 | 121 | 756 | 1 703 | 2 350 | 5 676 | 6 388 | 21 232 | 3 128 | 3 069 | 714 | 911 | 9 | |
| Virus del papiloma humano | S/C | 31 517 | 29.08 | N.A. | N.A. | N.A. | N.A. | 1 288 | 3 469 | 18 188 | 3 389 | 3 656 | 959 | 565 | 3 | |
| TOTAL | | 45 080 477 | | 3 218 774 | 8 125 960 | 5 462 244 | 3 537 768 | 2 689 246 | 2 803 773 | 9 123 310 | 2 279 805 | 3 492 250 | ### | 2 829 408 | 35 488 | |

FUENTE: SINAVAL/Salud/Sistema de Notificación Semanal de Casos Nuevos de Enfermedades/Acceso al campo de 2010
* Incidencia por 100 000 habitantes
** Incidencia por 1 000 habitantes menores de un año
*** Incidencia por 1 000 habitantes mayores de 5 años
**** Incidencia por 100 000 habitantes mayores de 9 años
N.A. = No aplica para el grupo de edad

Nota: El campo del sistema de notificación semanal corresponde a los casos que se registraron como sospecha diagnóstica, en apoyo al criterio del médico tratante que otorga consulta de primera vez. El sistema no realiza seguimiento para confirmación o descartar y refleja la intensidad con la que se buscan los casos.

Tabla 1

De acuerdo a un estudio realizado por María de Jesús Orozco-Valerio et al en la Gazeta Médica de México 2012 reportan una disminución del 69% en la tasa de mortalidad en el periodo de 1979-2009⁴ (fig. 1). En México, el número de hombres que murieron a consecuencia de las quemaduras es superior al de mujeres Esta disparidad es reportada en la mayoría de los estudios publicados, excepto en estudios de Irán, donde las mujeres tienen las más altas tasas de mortalidad por quemaduras comparadas con las obtenidas por hombres³.

El fuego/flama es el principal agente que produjo la quemadura y la muerte en México (94.9%), mientras que las quemaduras resultantes del contacto con objeto o sustancia caliente representan sólo 5.1% (Tabla 2).

En 2002, Hernández-Ávila mostró el hecho de que en el centro del país (donde

se concentra 61.6% de la población) existen la mayor cantidad de hospitales, la distancia a los centros de atención es más corta, y existe una gran cantidad y mejor calidad de las vías terrestres de comunicación⁵. Las unidades especializadas en el tratamiento de quemaduras sumaban 25 en 2009 en todo el país de las cuales 10 se ubican en la Ciudad de México (40%).

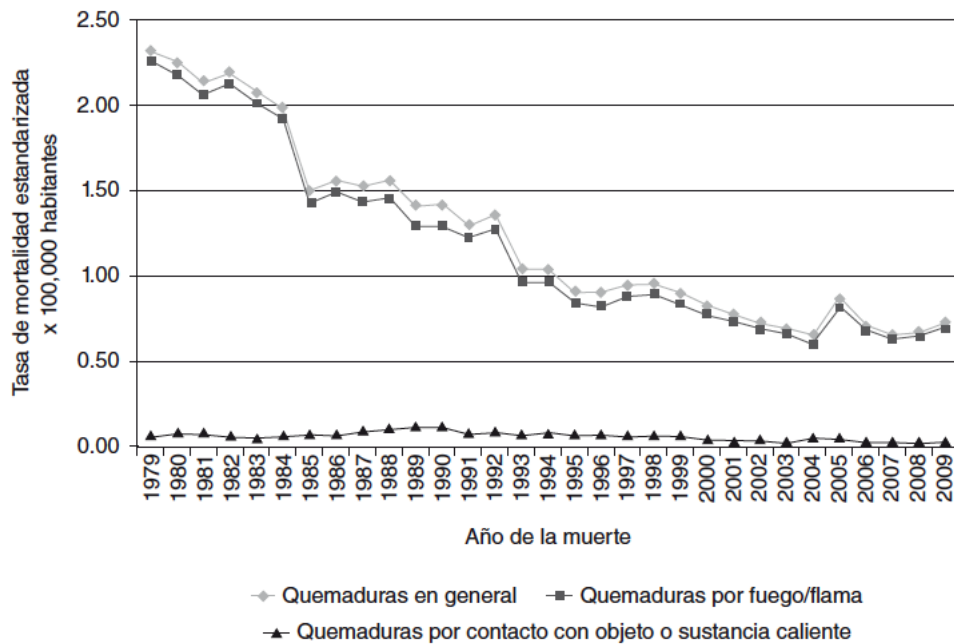


Fig. 1 Tendencia de mortalidad estandarizada por quemaduras. México, 1979-2009.

| | Códigos CIE-9* (1979-1997) | N | % |
|--|------------------------------------|----------|----------|
| Quemaduras por fuego/flama | | | |
| No intencional | E890-E899 | 18,844 | 80.0 |
| Suicidio | E958.1 | 118 | 0.5 |
| Homicidio | E968.0 | 1,341 | 5.7 |
| No determinada | E988.1 | 2,022 | 8.6 |
| Quemaduras por contacto con objeto o sustancia caliente | | | |
| No intencional | E924 | 1,161 | 4.9 |
| Suicidio | E958.2, .7 | 7 | 0.0 |
| Homicidio | E961, E968.3 | 46 | 0.2 |
| No determinada | E988.2, .7 | 20 | 0.1 |
| Total 1979-1997 | | 23,559 | 100.0 |
| | Códigos CIE-10† (1998-2009) | N | % |
| Quemaduras por fuego/flama | | | |
| No intencional | X00-X09 | 7,739 | 79.2 |
| Suicidio | X76 | 91 | 0.9 |
| Homicidio | X97 | 791 | 8.1 |
| No determinada | Y26 | 691 | 7.1 |
| Quemaduras por contacto con objeto o sustancia caliente | | | |
| No intencional | X10-X19 | 431 | 4.4 |
| Suicidio | X77 | 2 | 0.0 |
| Homicidio | X98 | 19 | 0.2 |
| No determinada | Y27 | 10 | 0.1 |
| Total 1998-2009 | | 9,774 | 100.0 |

*CIE-9: Clasificación Internacional de Enfermedades, novena revisión⁶
†CIE-10: Clasificación Internacional de Enfermedades, décima revisión⁷.

Tabla 2. Causa de quemaduras y muertes totales. México, 1979-2009

2. CLASIFICACIÓN

Las quemaduras se clasifican de acuerdo a su profundidad en quemaduras de primer grado, quemaduras de segundo grado superficial, quemaduras de segundo grado profundo, quemaduras de tercer grado y quemaduras de cuarto grado.

QUEMADURAS DE PRIMER GRADO

Comúnmente causado por chispazo y/o exposición solar. El epitelio se encuentra intacto y los cambios cutáneos son coloración rosada de la piel,

resequedad y dolor al tacto. No hay riesgo de cicatrización. La epidermis necrótica generalmente se desprende a los 2 a 3 días revelando una epidermis intacta. No requiere un cuidado específico⁷.

QUEMADURAS DE SEGUNDO GRADO

Estas se dividen en quemaduras de segundo grado superficial y profundo. Significa que la dermis ha sido dañada. La piel adquiere un aspecto húmedo, rosada, roja y edematosa. Generalmente sana con tratamiento local. Las superficiales son más sensitivas e hiperémicas y las profundas tienen mas riesgo de profundizarse y convertirse de tercer grado por lo que se deben de monitorizar cercanamente y se recomienda escindir para evitar las cicatrices hipertróficas⁷.

QUEMADURAS DE TERCER GRADO

Involucran el espesor total de la dermis y no curan sin cirugía. La piel adquiere una característica acartonada, seca e insensible. Ausencia notable de edema tisular en comparación con las quemaduras de segundo grado.⁷.

CUARTO GRADO

Se extiende al tejido celular subcutáneo a los tendones y al hueso. Asociado con perdida de extremidades y a necesidad de reconstrucciones complejas⁷.

3. VALORACIÓN DEL PACIENTE

Las personas con quemaduras graves deben afrontar multitud de problemas durante su hospitalización inicial tales como: 1) Compromiso de la vía aérea

debido al edema, 2) Lesión de la vía aérea inferior por inhalación de humo, 3) Síndrome de distress respiratorio (SDRA), 4) Restricción de la movilidad de la pared torácica debido a constricción provocada por la escara rígida de las quemaduras y el edema subcutáneo, 5) Alteración de la perfusión de un miembro debido a la constricción y edema provocados por una escara 6) Manejo de líquidos y electrolitos, 7) Procedimientos quirúrgicos múltiples con problemas anestésicos en cuanto a control de líquidos, reposición de sangre y regulación de temperatura corporal, 8) Sepsis y uso de múltiples antibióticos en un huésped inmunocomprometido, 9) Crecimiento de gérmenes oportunistas como hongos y virus, 10) Problemas nutricionales debido al hipercatabolismo, 11) Control del dolor, 12) Problemas psicológicos que afectan al paciente y su entorno familiar, 13) Rehabilitación funcional y estética^{2,7}.

4. FISIOPATOLOGIA DE LA LESIÓN TISULAR

La reparación de heridas en la piel secundarias a quemaduras requiere de un complejo proceso biomolecular de migración celular, proliferación, angiogénesis y remodelación de la matriz extracelular. Este proceso involucra varias células, factores de crecimiento y la síntesis de proteínas de la matriz extracelular. Durante la regeneración de la piel, la migración celular y la remodelación del tejido, es necesaria la degradación de la matriz extracelular y la liberación de factores de crecimiento. La degradación proteolítica de la matriz, particularmente la MMP-9 juega un papel crítico en la degradación de la matriz extracelular, para facilitar los pasos iniciales necesarios para la angiogénesis. La alta expresión de MMP estimula la respuesta angiogénica, subsecuentemente promueve el proceso de regeneración dérmica. La

angiogénesis, esta sujeta a un complejo sistema de control en donde se involucran factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos⁸.

5. TRATAMIENTO

El tratamiento de las quemaduras debe dividirse entre quemaduras de espesor parcial y quemaduras de espesor total y aquellas que necesitan tratamiento especializado. El tratamiento de quemaduras significativas es complejo. Debe de ser multidisciplinario en donde deben involucrarse el cirujano plástico, trabajadores sociales, servicio de nutrición, unidades de terapia intensiva, terapia ocupacional, psiquiatría, rehabilitación y enfermería^{7,10}.

Los criterios para transferir a pacientes a centros especializados de quemaduras incluyen quemaduras grandes, quemaduras pequeñas en zonas con alta morbilidad y pacientes con comorbilidades entre otras. Los extremos de la vida tienen una predilección indefinida a la respuesta sistémica desencadenada por las quemaduras⁷.

Para determinar el mejor mecanismo para transferir a determinada área de cuidados, debe haber una comunicación estrecha con el equipo de quemaduras evaluando el mecanismo de la quemadura. Esto se facilita haciendo un calculo el porcentaje de quemadura corporal usando la regla de los nueves o el diagrama de Lund-Brouder y haciendo una revisión de las condiciones asociadas. Antes de transferir a un paciente a una unidad de quemados se debe hacer una discusión con el responsable del equipo de quemados acerca de los siguientes datos: Vía aérea, succión nasogástrica, catéter urinario y acceso vascular. En adición, la resucitación con líquidos durante el traslado debe documentarse y las metas deben medirse de acuerdo

a la temperatura corporal, presión sanguínea, frecuencia cardíaca y gasto urinario, este último el parámetro más importante. La meta en la resucitación es lograr un volumen suficiente para asegurar una perfusión a los órganos distales mientras se evita un síndrome compartimental, edema y entumecimiento de las articulaciones. El esquema más aceptado para resucitación es el de Parkland. Así mismo el paciente debe mantenerse seco para mantener una adecuada temperatura corporal⁷.

TRATAMIENTO NO QUIRURGICO

Se basa en realizar curaciones diarias con desbridaciones, el uso de agentes tópicos como parches de plata, nitrato de plata y alginatos así como cuidados sistémicos, manejo del dolor, soporte nutricional y profilaxis antibiótica en casos específicos⁷.

TRATAMIENTO QUIRURGICO

Desbridación quirúrgica, cobertura cutánea (parches de queratinocitos cultivados, piel cadavérica, injertos autólogos, etc.), dermofasciotomias, cuidados de la herida y cuidados del sitio donador⁷.

6. CELULAS MESENQUIMALES

Las células Madre ofrecen terapias potenciales en 2 grandes áreas para manejo de quemaduras: lograr sanar y cerrar la herida mediante la atenuación de efectos inmunosupresores de la respuesta inflamatoria. El papel de la célula madre en la curación de la herida e inflamación sistémica puede extender su utilidad en cuidados de quemadura y limitar las complicaciones infecciosas y

mejorar los resultados¹. El poder terapéutico de las células madre reside en su clonogenicidad, potencia y pluripotencialidad¹⁰.

Dentro de los esquemas de clasificación las células madre adquieren una categorización de acuerdo a su potencialidad. Entre ellas encontramos las células madre embrionarias las cuales son pluripotentes (capacidad de diferenciarse en las tres capas germinativas), células del cordón umbilical con capacidad de multipotencialidad, células de la médula ósea, también conocidas como células mesenquimales con capacidad de multipotencialidad en las que se puede diferenciar a células de endotelio, condrocitos, osteocitos, adipocitos, fibroblastos y miocitos esqueléticos entre otros. Estas células mesenquimales carecen de inmunogenicidad, permitiendo su facilidad en el trasplante. A pesar de que las células mesenquimales expandidas de murino tienen muchos linajes en cultivo y han mostrado inestabilidad genómica, esto se ha observado infrecuentemente y con rangos menores de teratogenicidad en comparación con las células madre de embrión, esto lleva a una implantación mas fácil, alta plasticidad y mayor tolerancia del hospedero lo que las convierte entre las células madre mas importante en la investigación humana¹⁰.

Al aumentar los efectos de las células madre en la epitelización y reconstitución dérmica pueden acelerar la curación de las heridas. El retardar el cierre de las heridas por quemadura empeora la susceptibilidad del paciente a infecciones, dolor prolongado, aumenta el número total de procedimientos quirúrgicos y la incidencia de cicatriz hipertrófica y aumenta la estancia hospitalaria. Las terapias con células mesenquimales en el manejo de heridas disminuye o evita estas morbilidades¹⁰.

Uno de los más importantes factores pro-angiogénicos es el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). Durante los periodos tempranos del proceso de regeneración de la piel, pequeños capilares angiogénicos penetran en la matriz extracelular provisional y crean una red microvascular. En los seres humanos, después del nacimiento, las lesiones de la piel y otros tejidos se realizan por mecanismos que no permiten una regeneración apropiada del tejido original, por el contrario se promueve la formación de un tejido cicatricial, en donde no existe la regeneración de apéndices epidermales como el cabello o el vello, por lo que estos se pierden en el sitio dañado. El principal reto en la regeneración de la piel, es el entendimiento de como la piel puede inducir la reconstrucción de las porciones dañadas sin la formación de un tejido cicatricial o fibrótico. En estudios previos se ha comprobado que la infusión de células mesenquimales Flk1 positiva obtenidas de un ratón Balb/C que tiene pelaje blanco y que fueron infundidas vía intravenosa a un ratón C57BL/6 con pelaje negro irradiado para su reconstitución inmunológica, el recipiente gradualmente comenzó a presentar pelaje blanco. Los análisis inmunohistoquímicos de las áreas de la piel, demostraron que los folículos con pelaje blanco contenían células derivadas del donador de células madre mesenquimales, sugiriendo que estas están significativamente involucradas en la regeneración y funcionamiento del folículo piloso⁸.

Las quemaduras por irradiación en la piel resultan en muerte celular, pero la estructura cutánea permanece, el cual provee un andamiaje para la regeneración cutánea. El papel de las células mesenquimales en la regeneración cutánea en heridas excisionales, donde el andamiaje con las células se pierde, también ha sido investigado. Cuando se mezclan células de

médula ósea y células de la piel de embriones y son aplicadas en una herida excisional fresca se observa la formación de epidermis, folículos pilosos y glándulas sebáceas^{10,18}. Pero si solo se aplican las células de la médula ósea esto no ocurre, sin embargo si se aplican células mesenquimales en una matriz de gel, si se induce una regeneración dérmica con apéndices foliculares y glandulares. Estos resultados sugieren que las células mesenquimales requieren la co-existencia de células de la piel y moléculas liberadas por estas para la diferenciación y la regeneración estructural¹⁸.

Varios estudios han demostrado que las células mesenquimales son fáciles de expandir in vitro, y que estas células expandidas promueven la regeneración de heridas en modelos animales. Estudios recientes indican que las heridas excisionales pueden resistir fuertemente la contracción de la piel local en ratones, permitiendo a la herida sanar a través de una granulación y re-epitelización^{12,15,16}. Se ha demostrado que la aplicación tópica de células mesenquimales alogénicas pueden significativamente acelerar la regeneración de heridas cutáneas tanto en ratones bd/db como en ratones normales. Las heridas tratadas con células mesenquimales exhiben una velocidad significativamente mas alta de cierre con un re-epitelización, celularidad y angiogénesis del área regenerada¹⁶. Es importante notar que las células mesenquimales alogénicas fueron mucho mas potentes en promover la reparación de la herida en comparación de los fibroblastos dérmicos, las células que conforman la mayor población del estroma de la piel. Mas recientemente se ha comprobado que las células mesenquimales aceleran la regeneración de úlceras en ratones diabéticos. Impresionantemente, las células mesenquimales alogénicas exhiben una sobrevivencia similar, injerto en

comparación a las células singénicas en estos mismos modelos. Estos datos son significativamente importantes para el desarrollo de terapias basadas en células mesenquimales. Se tiene poca información acerca del efecto de células mesenquimales en la regeneración de heridas cutáneas en humanos^{8,9}.

En un reporte reciente cinco pacientes con heridas crónicas agudas, y ocho pacientes con heridas crónicas de largo estadio recibieron células autólogas mesenquimales de médula ósea. Estas células fueron expandidas y aplicadas tópicamente en cuatro ocasiones sobre las heridas en una matriz de fibrina, subsecuentemente el análisis de las biopsias del tejido mostraron signos de sobrevivencia de las células implantadas y la generación de nuevas fibras elásticas en la herida^{17,18}. Las células mesenquimales residentes en la piel o colocadas en la herida cutánea juegan un papel importante en el mantenimiento de la estructura y en la integridad funcional de la piel a través de factores paracrinos. Varios estudios han demostrado que las células mesenquimales secretan una variedad de citocinas⁹.

En un análisis de proteómica, empleando microarreglos de anticuerpos para la detección de 79 citocinas humanas, el medio condicionado derivado del cultivo de las células mesenquimales, se observó que reacciona con un gran cantidad de estas. Una regeneración óptima de la piel requiere de una integración orquestada de varios eventos moleculares mediados por estas citocinas. Como los fibroblastos son la principal población en la piel y es conocido que secretan diversas moléculas involucradas en la homeostasia y regeneración de heridas¹¹.

En un estudio comparativo en donde se analizó el medio condicionado del cultivo de células mesenquimales por una parte y el de fibroblastos dérmicos, se logro determinar que de 81 citocinas analizadas, 31 se expresan de manera distinta¹⁹.

Es conocido que las células mesenquimales secretan grandes cantidades de factores de crecimiento que incrementan la regeneración de lesiones en la piel, pero secretan bajas cantidades de IL-6 y osteoprotegerina en comparación a los fibroblastos⁹. De los factores de crecimiento expresados de manera diferente, el factor de crecimiento parecido a la insulina-1 (IGF-1) es particularmente intrigante, ya que su expresión en las células mesenquimales es extremadamente alto. Recientemente se ha demostrado que el IGF-1 juega un papel crucial en la regeneración de varios tejidos. Por lo tanto el IGF-1 tanto solo como junto con otras citocinas pueden estar involucradas en la regeneración cutánea. De acuerdo con esto, el medio condicionado derivado de el cultivo de las células mesenquimales significativamente promueve la proliferación de queratinocitos y células endoteliales in vitro, y las heridas tratadas con células mesenquimales contienen cantidades adecuadas de apéndices relacionados a la piel comparados con las heridas tratadas solo con fibroblastos dérmicos¹².

En general el perfil de citocinas expresado por las células mesenquimales sugiere que estas secretan altos niveles de citocinas a las cuales se les conoce que incrementan el crecimiento celular y la regeneración de tejidos, mientras que los fibroblastos dérmicos expresan grandes cantidades de citocinas que promueven el proceso inflamatorio. Las células inflamatorias participan

activamente en la regeneración de heridas. Inmediatamente después de una lesión en la piel, la herida se vuelve hipóxica, lo cual crea un microambiente quimiatractivo para las células del sistema inmunológico circulantes¹³. Específicamente los linfocitos son reclutados en la herida después de una lesión, en donde los neutrófilos, los monocitos (macrófagos) y los linfocitos secuencialmente dominan la herida, y un disturbio en esta secuencia de eventos puede causar un desorden en la regeneración de la herida. Las MSCs son capaces de secretar un gran número de citocinas como la proteína inflamatoria de macrófago (MIP)-1, MIP-2, la proteína quimioatractiva de monocito (MCP)-5, el factor derivado de célula estromal (SDF)-1 y el G-CSF, el cual se conoce que afecta ciertos linajes de células inflamatorias. Es por ello que es importante conocer, bajo condiciones de trasplante, particularmente en la aplicación local, la influencia de las MSCs en el proceso inflamatorio de la regeneración de la herida¹⁴.

Una reducción en la inflamación se ha encontrado que ocurre cuando se realiza la inyección local de células mesenquimales en el miocardio infartado, el cual contribuye considerablemente a reducir el tejido cicatricial en el tejido del corazón afectado¹⁵. El análisis de células en heridas excisionales, indican que el medio condicionado derivado del cultivo de células mesenquimales es un quimioatractivo muy fuerte para macrófagos, permaneciendo sin cambios los granulocitos reclutados, mientras que la población de células T muestra una modesta reducción. Los resultados son consistentes con los datos in vitro, en los cuales el medio condicionado derivado de MSCs, fue un poderoso quimioatractivo para los monocitos (seis veces más que el medio condicionado de fibroblastos dérmicos). Las moléculas MIP y MCP son los principales

quimioatrayentes para monocitos y macrófagos y juegan un papel muy importante durante la infiltración de los macrófagos durante el proceso de la restauración de la lesión. Las MSCs secretan varias veces más MIP-1 y MCP-5 que los fibroblastos dermales. Se conoce que los macrófagos tisulares juegan un papel muy importante en la regeneración tisular. Estos resultados sugieren que las MSCs selectivamente reclutan monocitos en la herida a través de la liberación de citocinas quimioatrayentes, implicando un valor terapéutico significativo en el tratamiento de heridas crónicas con este tipo de células. La neovascularización es un paso crucial en el proceso de la regeneración cutánea. La aplicación local de MSCs promueve la neovascularización. Los factores paracrinos de las MSCs parecen tener un papel importante para este incremento en la angiogénesis. Las MSCs son capaces de liberar altos niveles de proteínas pro-angiogénicas como las citocinas VEGF-a, IGF-1, el factor de crecimiento derivado de plaquetas BB y la angiopoyetina 1, así como también secretan altas cantidades de factor de crecimiento vascular endotelial alfa¹⁶.

Recientemente el Centro Biotecnológico de Terapias Avanzadas en la ciudad de México ha desarrollado un novedoso sustituto dérmico construido con moléculas biodegradables y células progenitoras obtenidas del tejido endometrial para su utilización en heridas de la piel como las Ulceras y las quemaduras. Este dispositivo denominado Bioandamio® fue financiado por la empresa Animal Cells también de la ciudad de México, para la realización de este estudio.

Este es el primer sustituto dérmico reportado en la literatura construido con células progenitoras mesenquimales grado clínico.

III. JUSTIFICACIÓN:

Actualmente no se cuenta con un tratamiento efectivo para lograr una restauración epitelial que ha sido alterada producto de una quemadura o un proceso que induzca la formación de heridas crónica en la piel con un producto biotecnológico que pueda ser utilizado en la inducción de la re-epitelización empleando células vivas sin que se tengan que obtener del mismo paciente y por consecuencia, tener largos periodos de espera para la obtención del producto terminado, así mismo, no existe un producto en el mercado que al mismo tiempo inhiba el proceso inflamatorio, mismo que en algunos casos, si este es muy exacerbado, llega a producir la necrosis de implantes autólogos.

Por lo tanto es importante que se desarrollen soluciones efectivas que busquen cubrir las deficiencias que hasta este momento se presentan. El presente proyecto plantea el uso de un dispositivo construido por ingeniería de tejidos que promueva la reepitelización de manera más eficiente de lo que hasta ahora han demostrado otros productos análogos y cuyos resultados presentan problemas en su costo de producción, tiempo de tratamiento y eficacia terapéutica.

La fabricación de un sustituto dérmico de disponibilidad inmediata, a partir de células madre mesenquimales alogénicas puede significar un enorme avance y autosuficiencia en nuestro país para el tratamiento del paciente con quemaduras ya sea pediátrico o adulto. Dadas las evidencias científicas que han demostrado la universalidad de las células estromales mesenquimales, estas se perfilan como la materia prima ideal en la restauración de órganos y

tejidos, con la gran ventaja de poder contar con poblaciones suficientes de esas células provenientes de donadores sanos para su uso en la construcción de estos sustituto dérmicos para su aplicación terapéutica de quemaduras y úlceras. Actualmente existen aproximadamente 400 protocolos clínicos aprobados por la FDA empleando células madre mesenquimales obtenidas de diversos orígenes, ya sea de tejidos adultos y de tejidos extraembrionario. (www.clinicaltrials.gov). Estas células son tanto autólogas como alogénicas. Las propiedades de inmunomodulación, inmunotolerancia y anti-inflamatoria, permiten utilizar a esta células sin la necesidad de realizar una concordancia entre las moléculas de histocompatibilidad del donador y el receptor.

Esta investigación generará las bases para la creación de un producto de disponibilidad inmediata con una amplia bio-actividad que reducirá significativamente los costos de tratamiento de los pacientes que han sufrido quemaduras o heridas crónicas.

IV. OBJETIVOS:

1. General:

Comparar el efecto del sustituto dérmico construido a base de un sustrato natural biodegradable y células madre mesenquimales (bioandamio®) con el de los apósitos de queratinocitos cultivado en la restauración de lesiones dérmicas producidas por quemaduras de espesor parcial en el modelo porcino.

Se han llevado a cabo una serie de procesos a nivel laboratorio que inicialmente demostraron que la tecnología desarrollada a parte de ser novedosa es fácilmente escalable y durante dos años se ha validado su

escalamiento a un nivel piloto para demostrar que dicha transferencia lleva consigo los mismo parámetros de laboratorio de investigación en base a los resultados obtenidos y por lo tanto el objetivo de esta innovación tecnológica es es el incremento de la masa de componentes para llevar a cabo productos representativos que cumplan con las características de calidad y de bioseguridad y con esto lograr el objetivo de cumplir con la normatividad de Cofepris ante la nueva ley de productos biotecnológicos.

2. Particulares

- i. Evaluación en el modelo animal del efecto de los sustitutos dérmicos desarrollados en la resolución de heridas causadas por quemaduras de espesor parcial.
- ii. Evaluación de seguridad por registro de eventos adversos, examen físico, signos vitales, mediciones preclínicas de laboratorio

V. TIPO DE ESTUDIO

Estudio experimental comparativo.

Estudio experimental en porcinos en el Servicio de Bioterio y Cirugía Experimental del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos.

VI. DISEÑO:

a. UNIVERSO: porcinos del Servicio de Bioterio y Cirugía Experimental del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos.

Muestra: Se utilizarán 10 porcinos

b. CRITERIOS:

- i. **Inclusión:** Porcinos clínicamente sanos, no utilizados en algún otro proyecto de investigación, sin antecedentes de quemaduras.
- ii. **Exclusión:** Animales clínicamente enfermos, con antecedentes de quemaduras o incluidas en otro proyecto de investigación.
- iii. **Eliminación:** Animales en los que se hayan caído los bioandamios de células mesenquimales y parches de queratinocitos cultivada antes de completar el tiempo de observación. Bioandamio®

c. MÉTODOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA:

Se incluyeron 10 porcinos para experimentación del Servicio de Bioterio y Cirugía Experimental del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos, con los criterios ya antes mencionados, las cuales se colocaron en jaulas individuales a temperatura ambiente, con adecuada alimentación.

Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las normas para el uso de los animales de laboratorio de México y los protocolos de manejo del Servicio de Bioterio y Cirugía Experimental del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos y la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* de los Estados Unidos.

Este protocolo fue aprobado para su realización por el comité para el cuidado y uso de animales de laboratorio CICUAE, para preservar el cuidado ético de los animales conforme a las normas mencionadas.

d. DEFINICIÓN DE VARIABLES:

- i. **Dependiente:** Quemaduras que se infringiran en cada uno de los porcinos.
Se realizaran 3 quemaduras de espesor parcial por porcino.

- ii. **Independientes:** Reepitelización en tiempos reducidos con la inhibición en la formación de tejido cicatricial y la inclusión de apéndices dérmicos propios de la piel con el uso de bioandamios de celulas mesenquimales.

e. MATERIAL Y METODOS:

i. Grupos de estudio:

Se utilizaron porcinos debido a que su piel se caracteriza por ser compatible con la piel humana en un 78 % y se ha utilizado en diversas ocasiones como un parche temporal en pacientes humanos con quemaduras, otras especies no se utilizan por la cantidad de pelo, el grosor de la piel en perros es variable y más dura en general, la de conejo y otras especies es muy delgada, con gran cantidad de pelo.

Se incluyeron 10 porcinos proporcionados por la empresa BIOINVERT especializada en animales de laboratorio cruza de las razas Yorkshire-Landrace clínicamente sanos con pesos de 10.400 Kg a 16.200 Kg

Se alimentaron con concentrado comercial marca Purina etiqueta verde 25-60 cuya tabla nutricional es:

- HUMEDAD: 12% Máximo
- PROTEINA: 15% Mínimo
- GRASA : 1.50 Mínimo
- FIBRA CRUDA: 10% Máximo
- CENIZAS: 8% Máximo
- CALCIO : 0.65 Mínimo
- FOSFORO: 0.45 Mínimo
- E.L.N. : 53.50%P/DIF
- El cual se administrara a libre acceso al igual que el agua potable.

Se tomaron los pesos individuales de los porcinos para ver su ganancia diaria de peso como un indicador indirecto de bienestar animal.

f. TÉCNICA QUIRÚRGICA:

Todas las cirugías se realizaron bajo condiciones estériles con el porcino descansando en posición decúbito ventral. 30 minutos anterior a la cirugía se administró 1-5 gr. de penicilina IV.

Se realizó anestesia general con sedación y se llevó a cabo con una combinación: Anestésico Tiletamina/zolazepam (ZOLETIL), 3.5 mg IM; Tranquilizante, relajante muscular Xilazina PROCIN EQUUS 1.32 mg, IM; Analgésico Tramadol (TRADOL) 50 mg IM. Dicha combinación proporcionó una adecuada anestesia y analgesia para este protocolo y 15 minutos después se realizaron las quemaduras.

Realización de Quemaduras.

Se realizaron 3 quemaduras de espesor parcial de aproximadamente 5 cm cada una en dorso de tronco de cada porcino. Las quemaduras se infringieron con una placa metálica por contacto (figura 1A y figura 1B). Una de las heridas fue manejada como se realiza convencionalmente en este hospital mediante aplicación de apósitos de queratinocitos cultivados de 7 x 8 cm² (Epifast), la otra se aplicó únicamente cubierta de apósito (Tegaderm), la otra se manejo con aplicación de bio-andamio de células mesenquimales (figura 2).



Figura 1. Realización de quemaduras con placa metálica sobre los porcinos



Figura 2. Colocación de apósitos

Post-operatorio.

Como antibiótico preventivo se aplicó una ampolla de penicilina benzatínica combinada de 1,200,00 UI y metamizol sódico por 2 días oral. Se observaron los pacientes durante un periodo de 15 días y se cambiaron vendajes y bioandamios cada 8 días (Bioandamio®). El apósito de Epifast y Tegaderm permaneció durante los 15 días. Al término de los 15 días se tomaron biopsias de espesor total de las tres heridas y se enviaron a patología para estudio histopatológico.

Toma de Biopsias.

Se anestesiaron a los animales con la misma combinación anestésica y analgésica. La toma de Biopsia de piel de los cerdos, se hizo con un punch de 0.3 a 0.5 cm.; se hizo una toma por cada quemadura provocada. Se recabaron 3 muestras por cada cerdo, etiquetando la fecha a que muestra corresponde cada toma (quemadura testigo, quemadura con bioandamio de células madre mesenquimales y quemadura con parches de queratinocitos cultivados). Las muestras fueron puestas en un tubo ensayo con formol bien tapado y herméticamente sellado (figura 3).

Información del tubo de ensayo:

- Fecha
- Numero de cerdo
- A qué tipo de lesión pertenece cada muestra.



Figura 3. Toma y etiquetado de las biopsias

Se enviaron al laboratorio de Histología, pidiendo que se realizará análisis de morfología con técnicas de hematoxilina y eosina y/o tricromica de massón.

Se pidió que se indicara la presencia o ausencia de apéndices dérmicos (glándulas sebáceas, glándulas sudoríparas y folículos pilosos) mediante microscopia convencional.

VII. ASPECTOS ÉTICOS

Los animales (Porcinos tipo Yorkshire-Landrace) que se utilizaron como modelo experimental fueron manejados de acuerdo con la Norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 ²⁷ (anexo 2), especificaciones técnicas para la producción, cuidados y uso de animales de laboratorio, se utilizó el menor número posible de animales, otorgándoles un trato digno y sin sufrimiento al momento del sacrificio. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los lineamientos descritos en la NOM-062- ZOO-1999: *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio* (71)

Además se siguieron protocolos de manejo del Servicio de Bioterio y Cirugía Experimental del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos

Mexicanos y la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* de los Estados Unidos.

VIII. RECURSOS Y LOGÍSTICA

Porcinos tipo Yorkshire-Landrace, bioterio de la unidad de cirugía experimental del HSCAE PEMEX, médico veterinario del bioterio, parches de Tegaderm, fármacos (Tiletamina/zolazepam, penicilina, tramadol), material de curación, soluciones (fisiológica), alimentos, parches de EPIFAST con contrato dentro de nuestra institución financiados oficialmente por la institución sin ningún conflicto de interés y el dispositivo denominado Bioandamio® que contiene células mesenquimales derivadas de tejido endometrial fueron financiados por las compañías Animal Cells y el Centro Biotecnológico de Terapias Avanzadas quienes fueron los responsables de todos los gastos para el desarrollo de este proyecto.

La información de capturó y analizó en Excel y en el programa estadístico SPSS versión 19.0. Se empleo estadística descriptiva.

Los resultados fueron presentados en tablas comparativas y gráficas.

Los resultados primarios fueron el numero de quemaduras que alcanzo la reepitelización completa mediante estudio histopatologico a los 14 días postquemadura. El porcentaje de reepitelizacion se determino bajo microscopia electronica la presencia o ausencia de apéndices dérmicos (glándulas sebáceas, glándulas sudoríparas y folículos pilosos) mediante microscopia convencional.

IX. RESULTADOS

Se incluyeron 10 porcinos en los cuales se observó histopatológicamente la efectividad de los tratamientos (figura. 4).

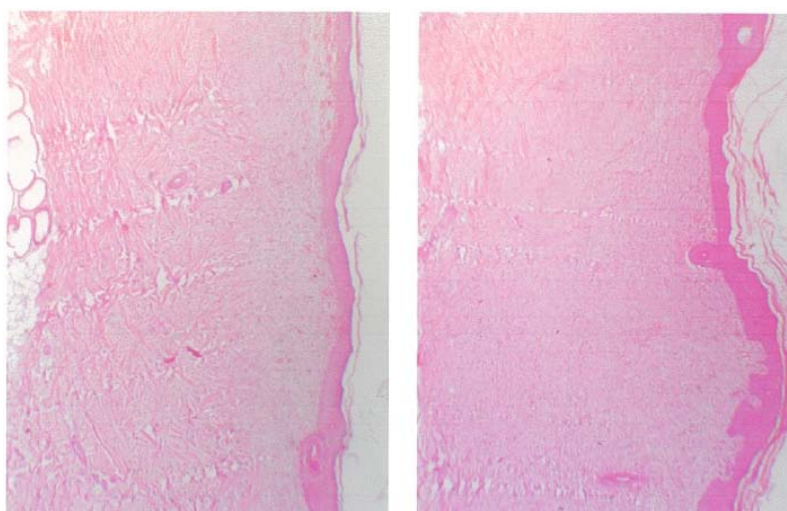


Figura 4. Efectividad a nivel de epidermis, dermis y capa cornea

En la epidermis, se observaron más casos de reepitelización completa en el grupo de Biandamio® seguido del grupo de Epifast (cuadro 1).

Cuadro 1. Alteraciones en la epidermis de cada muestra grupo de estudio

| No. | CONTROL EPIDERMIS |
|-----|--|
| 1 | Erosión con denudación de epitelio epidérmico con todas las capas epidérmicas |
| 2 | Erosión con denudación de epitelio epidérmico focal con desprendimiento de todo el estrato epidérmico |
| 3 | Erosión con denudación de epitelio epidérmico con todas las capas epidérmicas |
| 4 | Maduración epidérmica completa |
| 5 | Erosión, con acumulo de neutrófilos con parqueratosis (inflamada con costra) |
| 6 | Maduración epitelial completa con zonas de hiperplasia epitelial (capas epidérmicas engrosadas) |
| 7 | Hiperplasia epitelial (engrosada en todas sus áreas) |
| 8 | Normal |
| 9 | Acumulo de neutrófilos en capa cornea (costra), engrosamiento de la epidermis y respuesta fibrosa en dermis papilar (subepidermis) |
| 10 | Erosión con denudación de tejido epidérmico con todas la capas epidérmicas |
| | EPIFAST EPIDERMIS |
| 1 | Epitelización irregular con áreas de erosión |
| 2 | Epitelización completa con papilas dérmicas aplanadas |
| 3 | Epitelización completa |
| 4 | Epitelización irregular con papilas dérmicas aplanadas |
| 5 | Epitelización irregular con desprendimiento de epidermis completa |

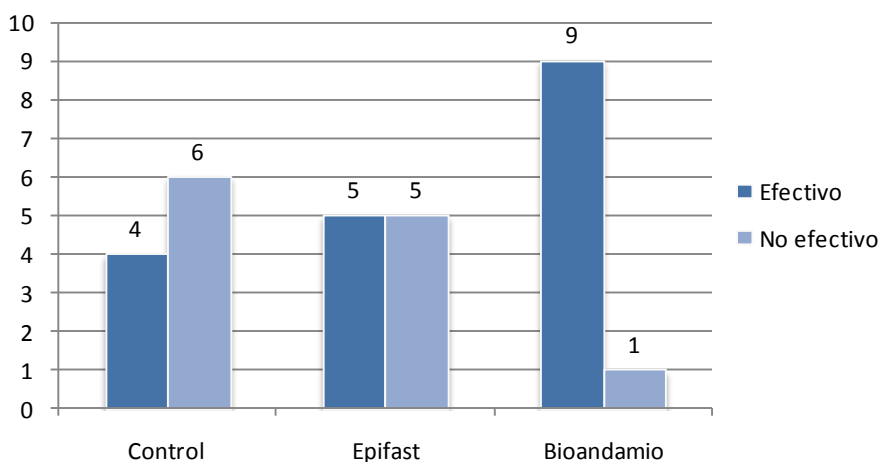
- 6 Epitelización completa
- 7 Epitelización irregular con cambios epiteliales reactivos y regenerativos, erosión y dermatitis descamativa
- 8 Buena epitelización
- 9 Epidermis normal
- 10 Epitelización irregular con áreas de erosión

BIOANDAMIO® EPIDERMIS

- 1 Epitelización completa
- 2 Epitelización completa en capa gruesa
- 3 Desprendimiento de todo el estrato epidérmico
- 4 Maduración completa
- 5 Epitelización completa, hiperplasia epitelial epidérmica erosiva con acumulo de neutrófilos (costra)
- 6 Epitelización completa
- 7 Epitelización completa
- 8 Epidermis normal
- 9 Hiperplasia epidérmica, elongaciones de tipo reactivo, hiperqueratosis con paraqueratosis
- 10 Epitelización completa

Se observó que la efectividad a nivel de la epidermis con el tratamiento Bioandamio® fue mejor en 9 muestras, seguido de Epifast (gráfica 1).

Gráfica 1. Efectividad en epidermis



Con respecto a la dermis, se observaron más casos con prominente tejido de granulación en las muestras tratadas con Bioandamio® (cuadro 2).

Cuadro 2. Alteraciones en la dermis de cada muestra grupo de estudio

CONTROL DERMIS

- 1 Control dermis

- 2 Congestiva con inflamación leve superficial
- 3 Normal
- 4 Congestiva con moderada respuesta de granulación
- 5 Tejido de granulación subepidérmica y en banda con linfocitos
- 6 Hemorrágica subepitelial con inflamación moderada superficial
- 7 Con abundante tejido de granulación con patrón nodular y congestión capilar
- 8 Engrosada con tejido de granulación, implantación crónica y cicatrización irregular
- 9 Con reacción fibroblástica ligera en dermis papilar, no actividad inflamatorio
- Tejido de granulación, congestión y edema ligero
- 10

EPIFAST DERMIS

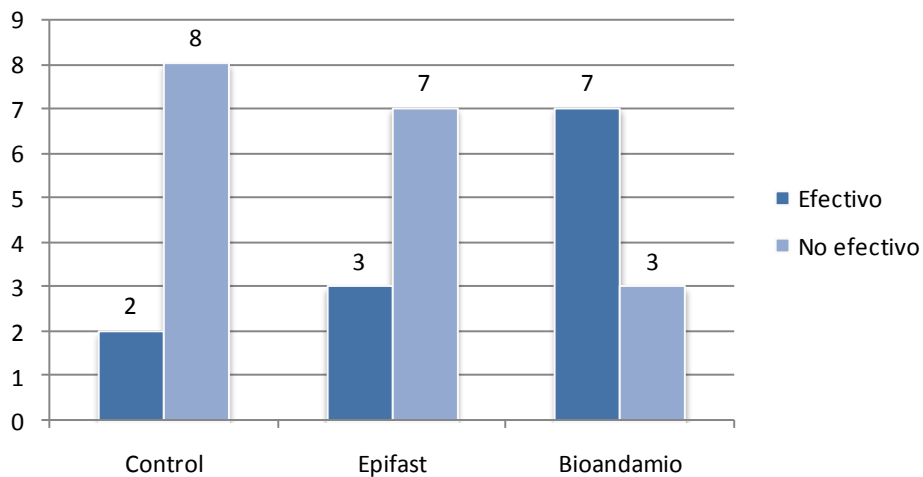
- 1 Incipiente tejido de granulación en dermis superficial
- 2 Tejido de granulación en "banda" en región subepidérmica
- 3 Tejido de granulación en dermis superficial congestión capilar
- 4 Incipiente tejido de granulación en dermis superficial
- 5 Dermis papilar (subepidérmica) al parecer a la toma de la muestra tejido muy friable
- 6 Abundante tejido de granulación
- 7 Abundante tejido de granulación y en fase de cicatrización consolidada en toda la dermis
- 8 Incipiente tejido de granulación en dermis superficial
- 9 Dermis con ligera congestión y reacción de granulación leve subepidérmica sin actividad inflamatoria
- 10 Incipiente tejido de granulación en dermis superficial

BIOANDAMIO® DERMIS

- 1 Prominente tejido de granulación de aspecto nodular y cicatrización en fase activa
 - 2 Prominente tejido de granulación de aspecto nodular vasos sanguíneos congestivos e inflamación crónica leve
 - 3 Tejido de granulación en banda
 - 4 Tejido de granulación subepidérmica y áreas de cicatrización en fase activa
 - 5 No valorado
 - 6 Prominente tejido de granulación de aspecto nodular
 - 7 Prominente tejido de granulación y áreas de cicatrización franca con aspecto de nódulos regenerativos componente inflamatorio mínimo, congestión vascular prominente
 - 8 Reacción de granulación moderada y cicatrización en fase consolidada
 - 9 Moderada respuesta de tejido de granulación
 - 10 Prominente tejido de granulación de aspecto nodular y cicatrización en fase activa
-

Por otro lado, la efectividad en la dermis con respecto a lo observado en la epidemis disminuyó en los tres tratamientos, no obstante, el Bioandamio® fue el que siguió mostrando mejores resultados (7 muestras) (gráfica 2.)

Gráfica 2. Efectividad en dermis

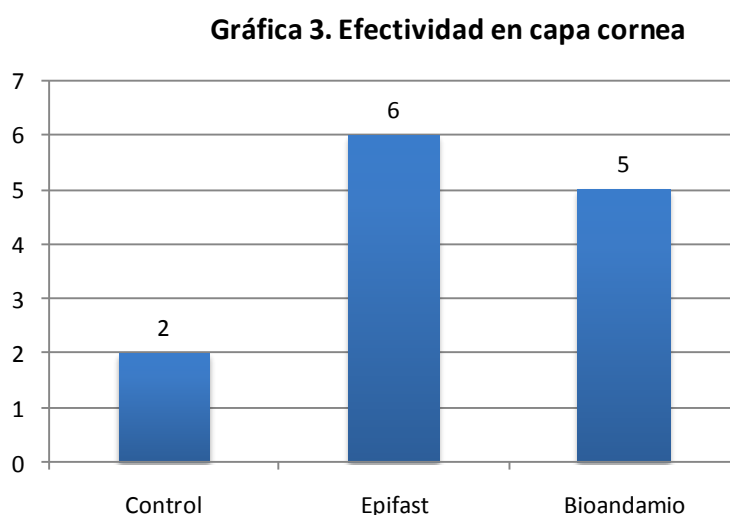


Todas las muestras mostraron una capa cornea adecuada en los tres tipos de tratamiento.

Cuadro 3. Alteraciones en capa cornea de cada muestra grupo de estudio

| No. | CONTROL CAPA CORNEA |
|-----|---|
| 1 | No valorada |
| 2 | No valorada |
| 3 | No valorada |
| 4 | No valorada |
| 5 | No valorada |
| 6 | No valorada |
| 7 | Capa cornea evidente, congestión y hemorragia subepidérmica, vesícula subepidérmica |
| 8 | No valorada |
| 9 | Capa cornea engrosada |
| 10 | No valorada |
| No. | EPIFAST CAPA CORNEA |
| 1 | Delgada capa cornea queratósica |
| 2 | Delgada capa cornea |
| 3 | Capa cornea queratósica |
| 4 | Delgada capa cornea |
| 5 | No valorada |
| 6 | No valorada |
| 7 | No valorada |
| 8 | Capa cornea normal |
| 9 | No valorada |
| 10 | Delgada capa cornea queratósica |
| No. | BIOANDAMIO® CAPA CORNEA |
| 1 | Capa cornea evidente |
| 2 | Estrato corneo evidente |
| 3 | No valorada |
| 4 | Acumuló de neutrófilos en capa cornea |
| 5 | No valorada |
| 6 | Con capa cornea evidente con áreas de erosión |
| 7 | Capa cornea normal |
| 8 | No valorada |
| 9 | Capa cornea engrosada con células neutrófilos |
| 10 | Capa cornea evidente |

Con respecto a la efectividad en la capa cornea, ésta fue menor en el grupo control y Epifast. El Bioandamio® mantuvo su efectividad en 5 muestras (gráfica 3). No fueron valoradas 17 muestras (8 del grupo control, 4 de Epfast y el resto de Bioandamio®).



El tratamiento con Bioandamio® tuvo mejores resultados histopatológicos y clínicos a nivel de la epidermis y dermis en comparación con el tratamiento Epifast.



Figura 5. A. Tejido tratado con bioandamio de células mesenquimales. B. grupo control y C. Tejido tratado con parches de queratinocitos cultivados.

X. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la figura 4 se demuestra la efectividad del Bioandamio de células mesenquimales contra Epifast. Se puede observar que la regeneración de epidermis, dermis y capa córnea es evidente y el grado de regeneración celular que logró el bioandamio. De acuerdo al cuadro número 1 en donde se enlistan las alteraciones en la epidermis de cada muestra de grupo de estudio, notamos que en general, en el grupo control, predominan la erosión con denudación del epitelio epidérmico en todas las capas epidérmicas así como también de manera focal con desprendimiento de todo el estrato epidérmico, además de la infiltración de neutrófilos.

En el caso del grupo de Epifast, predomina la epitelización irregular con áreas de erosión y papilas aplanadas. En el caso del grupo del Bioandamio® predominó la epitelización completa.

Como se observa en la grafica No 1 la efectividad a nivel de la epidermis fue mejor en el grupo del Bioandamio® (9 muestras) seguida del epifast (5 muestras). De acuerdo al cuadro número 2 la dermis mostró una mejor regeneración en su arquitectura en los animales que fueron tratados con el Bioandamio®.

Por último, la efectividad en la restauración de la capa córnea, según el análisis histológico de los animales valorados, fue superior en el caso del Bioandamio®.

Con estos resultados se logró establecer un estudio preclínico de casos y controles para el análisis de la efectividad en la restauración de la piel seguida de una quemadura en un modelo animal. Se lograron establecer los parámetros de medición para valorar la efectividad de un dispositivo biológico

en la restauración de la epidermis, dermis y capa córnea. Se logró la estandarización en el mecanismo de inducción de la quemadura en el modelo porcino.

Se logró estandarizar un método para la colocación del Biandamio® en el modelo porcino.

Se logró establecer la efectividad y la interpretación histológica de cada grupo estudiado.

Se logró inducir una regeneración de la piel en el modelo porcino empleando células de origen humano. Este aspecto es importante ya que nos habla tanto de la relación evolutiva de ambas especies y de que se encuentran conservados los mecanismos de inducción de tolerancia que promueven las células mesenquimales derivadas del tejido endometrial humano.

Otro aspecto importante es que estas células son de carácter universal, por lo que las mismas podrían ser aisladas de donadores sanos para luego ser aplicadas en cualquier persona sin riesgo de generar un rechazo inmunológico de las mismas.

Este hecho permitirá tener bancos de células progenitoras endometriales criopreservadas, listas para ser empleadas en la construcción del Bionadamio® para luego ser enviadas al centro de atención de personas quemadas en cualquier parte de la república.

El bioandamio puede ser fabricado y estar listo en tan sólo 4 horas, por lo tanto es de disposición inmediata.

El bionadamio puede construirse de tal suerte que se pueden cubrir grandes extensiones del cuerpo que se vean afectadas por quemaduras o úlceras.

El biandámio, en comparación a epifast, esta construido con moléulas bioactivas y células troncales endometriales vivas, lo que permite organizar y orquestar un proceso regenerativo eficiente.

XI. CONCLUSIONES

En el estudio efectuado el empleo del biondamio de celulas mesenquimales (bioandamio®) tuvo mejores resultados histopatológicos y clínicos a nivel de la epidermis y dermis en comparación con el tratamiento con Epifast y placebo según consta en los resultados descritos en quemaduras de espesor parcial.

Se emplearon substitutos dérmicos elaborados con matrices naturales y células madre mesenquimales derivadas de tejido endometrial humano, para ser empleadas en la resolución de heridas producidas en quemaduras de espesor parcial en modelo porcino. Dadas las evidencias científicas, el producto mostro ser apropiado para propiciar una re-epitelización en tiempos reducidos con la inhibición en la formación de tejido cicatricial y la inclusión de apéndices dérmicos propios de la piel. Los bioandamio® construidos para este estudio son innovadores, ya que se emplean mezclas de estos materiales que proporcionan productos con diversas propiedades de elasticidad , estabilidad y disolución, por lo que los productos de esta investigación pueden ser patentados

Se aplicó el producto terminado en estudios preclínicos y clínicos para probar su inocuidad y eficiencia en la restauración de quemaduras y úlceras en modelo porcino. Estos ensayos demuestran que la construcción que se plantea en este proyecto, no está relacionada con eventos adversos demostrando así

su bioseguridad, además de poner en evidencia bajo el estricto criterio científico de la eficiencia del producto en la restauración de heridas provocadas por quemaduras.

XII. REFERENCIAS

1. Secretaría de Salud. Mensaje del Secretario de Salud, José Ángel Córdova Villalobos, en la inauguración del banco de piel y tejidos del Instituto Nacional de Rehabilitación. Disponible en: http://www.salud.gob.mx/unidades/dgcs/sala_noticias/discursos/2009_03_20-inaugurac.htm. Consultada el 8 de mayo de 2009.
2. García MR, Luna M. Aprueba cámara de diputados recursos en el PEF 2008 para crear el Centro Nacional de Investigación y atención quemados. Agencia Interna de Información, Boletín de prensa, entrevista, intervenciones de los diputados del PAN, Trabajo Legislativo. 21 de noviembre. <http://www.diputadosfederalespan.org.mx/LX/despliega.asp?id=591407>. Consultada el 9 de octubre de 2008.
3. Soltani K, Zand R, Mirghasemi A. Epidemiology and mortality of burns in Tehran, Iran. *Burns*. 1998;24(4):325-8.
4. Orozco-Valerio. Tendencia de mortalidad por quemaduras en México, 1979-2009. *Gaceta Médica de México*. 2012;148:349-57
5. Hernández-Ávila J, Rodríguez M, Rodríguez N, et al. Cobertura geográfica del sistema mexicano de salud y análisis espacial de la utilización de los hospitales generales de la Secretaría de Salud en 1998. *Salud Pública Méx*. 2002;44(6):519-32.
6. Secretaría de Salud. Clave única de establecimientos de salud. Disponible en: <http://clues.salud.gob.mx/>. Consultada el 5 de julio de 2010.
7. Tiffany B. Grunwald. Acute Burns. *Plastic and Reconstructive Surgery*. May 2008. 311-319
8. Carlo Foresta. Blood Levels, Apoptosis, and Homing of the Endothelial Progenitor Cells After Skin Burns and Escharectomy. *The Journal of TRAUMA® Injury, Infection, and Critical Care* • Volume 70, Number 2, February 2011. 459-465
9. Cheifetz, S., Bellon, T., Cales, C., Vera, S., Bernabeu, C., Massague, J., & Letarte, M. (1992). Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 267, 19027-19030.

10. Kathryn L. Butler et al. Stem Cells and Burns: Review and Therapeutic Implications. *Journal of Burn Care & Research* Volume 31, Number 6. 874-881.
11. Haynesworth, S. E., Baber, M. A., & Caplan, A. I. (1992). Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone*, 13, 69-80.
12. Fukumoto, T., Sperling, J. W., Sanyal, A., Fitzsimmons, J. S., Reinholz, G. G., Conover, C. A., & O'Driscoll, S. W. (2003). Combined effects of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1 on periosteal mesenchymal cells during chondrogenesis in vitro. *Osteoarthritis Cartilage*, 11, 55-64.
13. Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., Moorman, M. A., Simonetti, D. W., Craig, S., & Marshak, D. R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284, 143-147.
14. Martin, I., Muraglia, A., Campanile, G., Cancedda, R., & Quarto, R. (1997). Fibroblast growth factor-2 supports ex vivo expansion and maintenance of osteogenic precursors from human bone marrow. *Endocrinology*, 138, 4456-4462.
15. Shake, J. G., Gruber, P. J., Baumgartner, W. A., Senechal, G., Meyers, J., Redmond, J. M., Pittenger, M. F., & Martin, B. J. (2002). Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *The Annals of Thoracic Surgery*, 73, 1919-1925.
16. Dorothy M. Supp, Vascular Endothelial Growth Factor Overexpression Increases Vascularization by Murine But Not Human Endothelial Cells in Cultured Skin Substitutes Grafted to Athymic Mice. *Journal of Burn Care & Rehabilitation*. 337-345
17. Martin, I., Muraglia, A., Campanile, G., Cancedda, R., & Quarto, R. (1997). Fibroblast growth factor-2 supports ex vivo expansion and maintenance of osteogenic precursors from human bone marrow. *Endocrinology*, 138, 4456-4462.
18. Simmons, P. J., & Torok-Storb, B. (1991). Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1. *Blood*, 78, 55-62.
19. Kadiyala, S., Young, R. G., Thiede, M. A., & Bruder, S. P. (1997). Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. *Cell Transplant*, 6, 125-134.

20. Ringe, J., Kaps, C., Schmitt, B., Buscher, K., Bartel, J., Smolian, H., Schultz, O., Burmester, G. R., Haupl, T., & Sittinger, M. (2002). Porcine mesenchymal stem cells. Induction of distinct mesenchymal cell lineages. *Cell and Tissue Research*, 307, 321-327.
21. Lodie, T. A., Blickarz, C. E., Devarakonda, T. J., He, C., Dash, A. B., Clarke, J., Gleneck, K., Shihabuddin, L., & Tubo, R. (2002). Systematic analysis of reportedly distinct populations of multipotent bone marrow-derived stem cells reveals a lack of distinction. *Tissue Engineering*, 8, 739-751.
22. McBride, C., Gaupp, D., & Phinney, D. G. (2003). Quantifying levels of transplanted murine and human mesenchymal stem cells in vivo by real-time PCR. *Cytotherapy*, 5, 7-18.
23. F. P. (1998). Mesenchymal stem cell surface antigen SB-10 corresponds to activated leukocyte cell adhesion molecule and is involved in osteogenic differentiation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 13, 655-663.
24. De Ugarte, D. A., Morizono, K., Elbarbary, A., Alfonso, Z., Zuk, P. A., Zhu, M., Dragoo, J. L., Ashjian, P., Thomas, B., Benhaim, P., Chen, I., Fraser, J., & Hedrick, M. H. (2003). Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs*, 174, 101-109.

