



11211
15.
2 ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO "LA RAZA"
CIRUGIA PLASTICA Y RECONSTRUCTIVA**

**EFFECTOS DEL POLIETILENGLICOL-DIMETILSULFOXIDO EN
EL PROCESO DE CICATRIZACION EN PIEL DE RATAS.
ESTUDIO EXPERIMENTAL CLINICO-HISTOLOGICO.**

**TESIS DE POSTGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN CIRUGIA PLASTICA
Y RECONSTRUCTIVA**

**P R E S E N T A
DR. JORGE PAEZ MATA**

ASESOR: DR. JOSE LUIS VALDES G.



IMSS

MEXICO, D. F.

1990

FALLA DE ORIGEN



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

INDICE

Introducción.....	5
Planteamiento del problema.....	6
Antecedentes.....	7-10
Objetivo.....	11
Hipótesis.....	12
Material y métodos.....	13-15
Resultados.....	16-22
Discusión.....	23-24
Conclusiones.....	25
Bibliografía.....	26-27

A través de los tiempos, el hombre ha buscado fórmulas mágicas que pudiesen convertir todo en oro, la fuente de la eterna juventud, o la sustancia que lo cure todo. De igual manera, los hombres dedicados a la ciencia, arte o magia de la cirugía han tratado de encontrar "algo" para evitar la formación de cicatrices, principalmente en la piel. Para ello, ha utilizado un sin número de artefactos, sustancias, ritos, --- etcétera, sin lograr hasta la fecha modificar el proceso de cicatrización.

Se ha estudiado mucho, y se ha avanzado en el sentido de mejorar la calidad de las cicatrices resultantes, teniendo especial influencia en ello, el manejo atraumático de los tejidos y el gran desarrollo alcanzado tanto en los instrumentos quirúrgicos, como en los materiales de sutura; factores en los que incide especialmente la rama de la cirugía a la que estamos dedicados.

Las especies de animales superiores, han perdido en la escala de su evolución, la capacidad de regeneración tisular que aún existe en las especies de animales inferiores. En estas especies superiores a las que pertenecen los mamíferos y entre ellos el hombre, la reparación normal de los tejidos --- cuando sufren agresión de cualquier índole que provoca pérdida de células , éstas son sustituidas por fibras colágenas - principalmente, proceso conocido como cicatrización.

Dicha cicatrización puede presentar características anormales en las que la respuesta al traumatismo y el depósito de fibras de colágena llega a ser abundante e incluso a invadir tejidos sanos.

El presente estudio fué enfocado hacia un novedoso procedimiento llamado "Fusión Celular", logrado por primera vez por Barski (1), quien en el año de 1960 logró aislar células híbridas, lo que hizo merecedor al premio nobel. Muchos han sido los trabajos publicados sobre los diferentes aspectos de la fusión celular, sin embargo citamos los más representativos y clásicos: Harris (10), Barski (2), Ephrussi (7), y, -- Ringers y Savage (15).

La fusión celular consiste en modificar las estructuras moleculares de las membranas para lograr que dos o más células se unan, conteniendo así los elementos intracelulares en una sola estructura. Los medios para lograr la fusión celular han sido múltiples y variados, han evolucionado lógicamente con el paso del tiempo y el desarrollo de la tecnología, unos -- tienen características muy simples, otros son muy sofisticados. Las fuentes causantes de tal fusión también han variado utilizándose desde virus (sendal), diferentes tipos de energía como la eléctrica y la nuclear, hasta sustancias diversas.

El presente documento preconiza el uso del Polietilenglicol (PEG), como lo han demostrado Bonnet y Erickson (3), Constabel y Kao (4), Kao y Michauluk (11) y Pontecorvo (14), ya -- que característicamente este método ha resultado ser sencillo y fácilmente reproducible.

Al polietilenglicol (PEG), se le considera dentro del grupo de los polihidroxiemulcentes, junto con la glicerina, propilenglicol y los glicoles polietilénicos. Los polietilenglicol-

les son polímeros de alto peso molecular producidos por la reacción del óxido de etileno con el etilenglicol o agua. -- Tienen como fórmula general $H(OCH_2)_n OH$. El número de moléculas (n) puede ser de uno a gran número, los pesos moleculares de estas sustancias varían de 150 a 20 000. Las sustancias de peso molecular hasta de 600 son líquidas a temperatura ambiente y se asemejan a los aceites del petróleo muy refinados por su aspecto y consistencia. Las de peso molecular de 1000 a 9000 son sólidas a temperatura ambiente y se asemejan a las ceras del petróleo como la parafina. El polietilenglicol NF es un sólido duro y resistente. Los polietilenglicoles tienen gran importancia en la industria farmacéutica debido a su hidrosolubilidad, amplia compatibilidad y bajo grado de toxicidad. Se emplean como base de ungüentos hidrosolubles similares al ungüento de Polietilenglicol NF, como ingredientes de lociones, supositorios o revestimientos de tabletas.

El polietilenglicol ha sido establecido como un poderoso fusógeno celular (11). Inicialmente utilizó en la fusión de protoplastos vegetales (11). Posteriormente probado en la fusión de células animales de mamíferos, obteniendo altas tasas de híbridos que conservan la capacidad de multiplicación (14). Además de lograr obtener combinaciones recalcitrantes antes no alcanzadas, como fibroblastos con linfocitos humanos (14). Posteriormente, los estudios se han enfocado a establecer los detalles técnicos para alcanzar las mayores ta-

sas de hibridización, como son los trabajos de Davidson y -- colaboradores (5 y 6). En el primero utilizan diferentes grados en peso molecular de PEG, y a diferentes concentraciones, logra establecer así, que el pico máximo de fusión en todos los grados de PEG con pesos de 400 hasta 6000 caen en el rango de concentración del 50 al 55 por ciento, siendo el óptimo el de peso molecular de 1000 a concentración de 50 por -- ciento, porque con ello se alcanzan las más altas tasas de -- hibridización. Estos resultados lo llevaron a plantear los -- alcances en la inducción de híbridos, tienen relación con -- las repeticiones de subunidades y/o la masa molecular del -- PEG. En el segundo trabajo, prueba que un corto período de exposición al PEG, de aproximadamente un minuto, así como la rápida dilución del mismo después del tratamiento de las células tanto en monocapa como en suspensión, mejora sustan-- cialmente las tasas de fusión celular.

La adición de dimetilsulfóxido (DMSO) al tratamiento de las células en cultivo para lograr fusión celular, fué introdu-- cido y ampliamente estudiado por Norwood y colaboradores --- (13). Complementando la acción del PEG con DMSO, logra incrementar dramáticamente la producción de células multinuclea-- res. En sus trabajos establece que la aplicación de DMSO a -- concentración del 10 por ciento, probó la mayor efectividad para lograr las más altas tasas de fusión. Todos estos experimentos han sido realizados en cultivos celulares en mono-- capa y en suspensión, la aplicación de estas técnicas de fu-

si3n celular en tejidos animales vivos, ha sido estudiada y reportada por el Dr. Gonz1lez Ram1rez , colaborador del presente estudio. El ha publicado la formaci3n de homocariocitos hep1ticos en ratas con el fin de eliminar el fen3meno de rechazo histol3gico (8). En otra publicaci3n estrechamente relacionada y motivo del presente estudio, en la cual mediante aplicaci3n de polietilenglicol y dimetilsulf3xido al 5%, realizada en ratas, obtiene disminuci3n importante en el tiempo de cicatrizaci3n en comparaci3n con las heridas control. En este estudio las observaciones fueron 1nicamente cl1nicas (9).

Actualmente el uso de las t1cnicas de fusi3n celular se ha extendido a muchos campos de la investigaci3n biom1dica, dandose un enfoque de aplicaci3n en la ingenier1a gen1tica. Mediante este enfoque, se est1n resolviendo problemas de deficiencias enzim1ticas o de otro tipo, al fusionar c1lulas capaces de sintetizar dichas enzimas con las deficientes, eliminando as1 el rechazo al tejido transplantado.

OBJETIVO

11

Comprobar mediante estudio histológico, fusión celular de --
piel en ratas, producida por polietilenglicol-dimetilsulfóxi-
do con el objetivo de evitar la formación de tejido cicatri-
zal al provocar una herida cutánea. Así como sus efectos ---
clínicos mediante el registro cronológico de sus caracterís-
ticas macroscópicas.

HIPOTESIS

12

Sí el polietilenglicol y dimetilsulfóxido tienen la capacidad de producir fusión celular en tejidos vivos, y estas sustancias son aplicadas a los bordes de una herida cutánea, entonces, la pérdida de células será menor y por tanto el tejido a substituir por el proceso de cicatrización también será menor.

Se utilizaron 20 ratas blancas cepa Fisher, adultas, con peso entre 200 y 300 gramos, a las que se les anestesió con -- una mezcla de ketamina-haloperidol a dosis de .5 mg/kg de -- cada uno. Se les realizó una vez anestesiadas, tricotomía de la región ventral abdominotorácica, procediendo a la antisepsia de la región con solución de isodine espuma. Bajo técnica estéril se procedió a realizar dos incisiones longitudinales de 3 cm de longitud, y a 1.5 cm de la línea media en la región toracoabdominal, comprendiendo en profundidad hasta el pániculo carnoso. Una vez lograda la hemostasia mediante compresión, se procedió a la aplicación del preparado de dimetilsulfóxido al 5% y polietilenglicol al 50% en las heridas del lado derecho a las que se les denominó herida experimental, dejando actuar el preparado durante 1 minuto, al cabo del cual se eliminó el exceso mediante el uso de isopos estériles, y posteriormente se irrigaron ambas heridas (control y experimental) con solución de Hanks. Una vez realizado lo anterior se procedió a la sutúra de ambas heridas con dermalon 5-0 con puntos simples separados y suturandose únicamente piel. Fotografías 1,2,3 y 4.

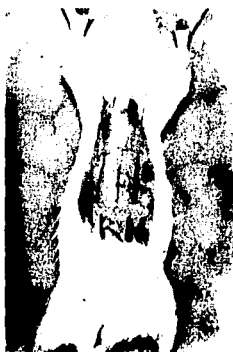
A las 24 hrs de postoperatorio, nuevamente se procedió a --- anestésiar a los animales, se tomaron fotografías de ambas heridas y se realizaron las anotaciones clínicas correspondientes. Procediendo nuevamente a realizar antisepsia de la región y tomar biopsia en huso de piel de ambas heridas, y suturando en la forma antes señalada. Ambas muestras de las

heridas fueron colocadas en recipientes de vidrio con formol para su envío a laboratorio de patología, previo marcaje de identificación de las mismas.

A los 7 días fué repetido el procedimiento anterior además de retirar los puntos de la primera sutúra. Y a los 14 días se repitió el procedimiento de toma de biopsia y sutúra de las heridas resultantes.



Fotografía 1. Preparación de la región con isodine.



Fotografía 2. Sitio de incisiones.



Fotografía 3. Incisiones.



Fotografía 4. Sutura de heridas.

Los resultados obtenidos se describen en base al tiempo de evolución postoperatoria en tres etapas: a las 24 horas, a los 7 días y a los 14 días, así como los hallázos clínicos e histológicos respectivamente en cada una de sus etapas.

VEINTICUATRO HORAS:

Hallázos clínicos.-No hubo diferencias clínicas entre las 20 heridas control y las 20 heridas experimentales en esta etapa de evolución postoperatoria, tanto desde el punto de vista de proceso inflamatorio, como de crecimiento de pelo. Según se evidencia en las fotografías mostradas 5 y 6.

Hallázos histológicos.-Al igual que en los hallázos clínicos, en esta etapa no se evidenciaron diferencias histológicas en ninguna de las 20 muestras de heridas experimentales como de heridas control, observandose en ambas infiltrado leucocitario a expensas de polimorfonucleares y focos de eritrocitos en sitios de incisión. Figuras 13,14,15 y 16.

SIETE DIAS:

Hallázos clínicos.-En esta etapa de evolución postoperatoria se notó en las 20 heridas experimentales un menor proceso inflamatorio comparativamente con las 20 heridas control, sin embargo no se evidenciaron diferencias en cuanto a crecimiento de pelo, ni de otra característica en particular.-- Figuras 7 y 8.

Hallázos histológicos.-Contrariamente a las evidencias clínicas todas las heridas experimentales presentaron cuantitativamente mayor infiltrado de polimorfonucleares, comparati-

vamente con las heridas control. Además de esta diferencia - no se observó ninguna otra, ni fusión celular. 17,18,19 y 20.

CATORCE DIAS:

Hallázosos clínicos.-En esta etapa de evolución postoperatoria las diferencias clínicas continuaron siendo un menor proceso inflamatorio en las heridas experimentales, así como -- mayor evidencia en el marcaje de los puntos de sutura en las heridas control. Figuras 9,10, 11 y 12.

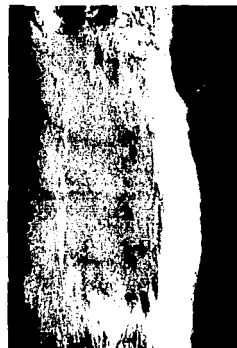
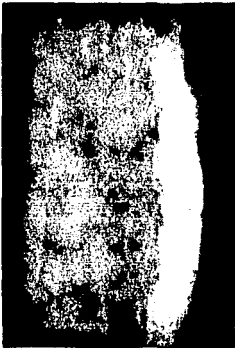
Hallázosos histológicos.-Al igual que en la etapa anterior, - todas las muestras de heridas experimentales mostraron mayor infiltrado leucocitario predominando células gigantes multinucleadas; no así las heridas control en las que el infiltrado fue escaso, predominando la proliferación de fibroblastos. Tampoco se observó datos de fusión celular. Figuras 21,22, 23 y 24.



Fotografías 5 y 6. Muestran el aspecto de las heridas a las 24 hrs de postoperatorio.



Fotografías 7 y 8. Muestran el aspecto de las heridas a los 7 días de postoperatorio.



Fotografías 9,10,11 y 12. Muestran el aspecto de las heridas a los 14 días de postoperatorio.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Fotografía 13. Corte histológico de herida control a las 24 hrs de postoperatorio.

Fotografía 14. Aumento de corte anterior.



Fotografía 15. Corte histológico de herida experimental a las 24 hrs de postoperatorio.



Fotografía 16. Aumento de corte anterior.





Fotografía 17. Corte histológico de herida control a los 7 días de postoperatorio.

Fotografía 18. Aumento de corte anterior.



Fotografía 19. Corte histológico de herida experimental a los 7 días de postoperatorio.



Fotografía 20. Aumento de corte anterior.





Fotografía 21. Corte histológico herida control a los 14 días de postoperatorio.

Fotografía 22. Aumento de corte anterior.



Fotografía 23. Corte histológico de herida experimental a los 14 días de postoperatorio.



Fotografía 24. Aumento de corte anterior.



En base a los resultados obtenidos, consideramos que los efectos del polietilenglicol y dimetilsulfóxido sobre el proceso de cicatrización se debe basicamente al efecto antiinflamatorio del segundo, sin embargo, no podemos hacer conclusiones sobre el efecto de uno y otro por separado, hasta realizar los estudios y tener pruebas pertinentes para tal afirmación.

En nuestro estudio, no observamos variaciones en la cronología en los eventos del proceso de cicatrización comparativamente en heridas experimentales y heridas control, como lo reporta el Dr. González Ramírez, quien obtuvo cicatrización más rápida en las heridas en las que se aplicó el PEG-DMSO. Desde el punto de vista histológico no se observó en ninguno de los cortes la búsqueda fusión de células, con el método -- utilizadó; por lo que consideramos pertinente en vista de -- los reportes previos de fusión celular en tejidos cultivados, una mayor investigación al respecto, variando los métodos a utilizar, buscando alcanzar la fusión de elementos celulares en tejidos vivos, específicamente en piel. Aunque cabe señalar algunos puntos de reflexión sobre las características de dicho tejido. En primer lugar el epitelio o epidermis, que es la capa con mayor contenido celular, ante un traumatismo ésta es regenerada con células, aunque con menor espesor total del estráto y de menor resistencia. No así en las capas de dermis compuestas principalmente por fibras de colágena y fibras elásticas, con un contenido celular pobre comparati-

vamente con otros tejidos, por lo que cabe interrogarse aquí la probable utilidad de la fusión celular (de fibroblastos) si se logrará?, qué efectos tendría sobre la síntesis de colágena y fibras elásticas de la dermis en casos de lesión. - Tal vez el camino a seguir en la investigación de la cicatrización sea la búsqueda de un adhesivo de colágena, o un inductor y conformador de fibras de colágena con características semejantes o iguales a las de la piel normal.

CONCLUSIONES

25

El polietilenglicol al 50 por ciento, adicionado con dimetilsulfóxido al 5 por ciento, no provoca fusión celular en piel de ratas al provocar una herida cutánea nítida con reparación primaria.

El polietilenglicol y dimetilsulfóxido no aceleran el proceso de cicatrización en las condiciones antes señaladas.

Es mérito de mayor estudio los efectos del polietilenglicol y el dimetilsulfóxido sobre el proceso de cicatrización, la posible obtención de fusión celular en heridas de piel con dichas sustancias o con otras y sus posibles efectos sobre el proceso de cicatrización.

Hasta la fecha, nada substituye la excelencia en la técnica quirúrgica y el adecuado uso de materiales e instrumental quirúrgico para obtener la mejor calidad de cicatriz.

1. Barski, G., Soriaul, S., Cornefert, T. Production dans des cultures in vitro de deux socuches cellulaires en association de celules de caractere "hybride". C.R. Acad. Sci Paris 251: 1825,1827, 1960.
2. Barski, G. Cell association and somatic cell hybridization Int. Rev. Exp Pathrol. 9:151-90 1970.
3. Bonnet, H.T., Eriksson, T. Transfer of algal chloroplasts - into protoplasts of higher plants. Planta 120:71-79,1974.
4. Constabell, F., Kao, K.N. Agglutination and fusion of plant protoplasts by polyethyleneglycol. Can.J. Bot. 53:1603-1606, -- 1974.
5. Davidson, R.L., Kathlenn A.Q., Wheeler T.B. Polyethylene Glycol induced mammalian Cell hybridization: Effect of Poly-- ethylene Glycol Molecular Weight and Concentration. Somatic Cell Genetics Vol. 2, No 3, 1976, 271-280.
6. Davidson, R.L., Gerald, P.S. Improved Techniques for the induction of Mammalian Cell Hybridization by Polyethylen Glycol. Somatic Cell Genetics, Vol 2, No. 2, 1976, 165-176.
7. Ephrussi, B. Hybridization of Somatic Cells. Princenton -- Univ. Press Princenton, 1972.
8. González R.J., Guerrero, P.E., Nuñez A., Martínez T. Formación de homocariocitos hepáticos producidos con Polietilenglicol. Archivo de Investigación Médica 1983, jul-oct 32 (7-8 supl) 1, 219-27.

9. González, R.J., Guerrero, P.E., Tovaín, A.A., González, --
A.A. Cicatrización acelerada producida por el Polietilengli-
col. Archivo de Investigación Médica. México. 1984. 15:281.
10. Harris, H. Cell Fusion, The Dunham Lectures Oxford Univ.
Press London, 1970.
11. Kao, K.N., Michayluk, M.R. A Method for high frequency --
intergenetic fusion of plant protoplast. Planta 115:355-367,
1974.
12. Klebe, R.J., Harris, J.V., Hanson, D.P., Gauntt Ch.J. Hi-
gh-Efficiency Polyethylene Glycol- Mediated Transformation
of Mammalian Cells. Somatic Cell Molecular Genetics, Vol 10,
No. 5, 1984, 495-502.
13. Norwood, Y.H., Zeigler, C.J., Martin, G.M. Dymethyl Sul-
foxide Enhances Polyethylene Glycol Mediated Somatic Cell --
Fusion. Somatic Cell Genetics, Vol 2, No. 3, 1976, 263-270.
14. Pontecorvo, G. Production of indefinitely multiplying Mam-
malian somatic cell hybrids by Polyethylene Glycol (PEG) ---
treatment. Somatic Cell Genet 1:397-400, 1976.
15. Ringertz, N.R., Savage, R.E. Cell Hybrids Academic Press
New York 1976.