

11262  
11  
B2



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

División de Estudios de Posgrado  
Instituto Mexicano del Seguro Social  
Hospital de Traumatología Magdalena de las Salinas  
C I N V E S T A V

“COMPARACION DE LOS RESULTADOS CLINICOS OBTENIDOS  
CON ALOINJERTOS DE EPIDERMIS CULTIVADA Y VENDAJE  
SECO ADHESIVO (PAPEL DE PORO FINO) EN AREAS  
DONADORAS DE PIEL DE ESPESOR INTERMEDIO  
EN PACIENTES QUEMADOS”

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS  
P R E S E N T A  
MARIA TERESA RIVAS TORRES

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



IMSS

MEXICO, D. F.

1993



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.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## Resumen

Se realizó un ensayo clínico controlado para comparar los resultados clínicos obtenidos con aloinjertos de epidermis cultivada y vendaje seco adhesivo (papel de poro fino), aplicados en áreas donadoras de piel de espesor intermedio. Participaron 10 pacientes moderadamente quemados, que requirieron toma de injertos como parte de su tratamiento. Ambos tratamientos se aplicaron en la misma área donadora de manera aleatoria. Los aloinjertos de epidermis cultivada utilizados fueron obtenidos del prepucio de recién nacidos sanos y cultivados según la técnica de Rheinwald y Green en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Las áreas tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada epitelizaron en 6-8 días, mientras que las áreas tratadas mediante vendaje seco adhesivo con papel de poro fino epitelizaron en 10-12 días ( $p < 0.005$ ). Un mes después de la intervención se evaluó la coloración (presencia de eritema) de las áreas mediante fotografías, y se encontró que en 6 de los 10 pacientes, la fase de eritema fue menor con los aloinjertos de epidermis cultivada que con el tratamiento control ( $p < 0.01$ ). Al tercer mes postoperatorio y también mediante fotografías se evaluaron las alteraciones en la pigmentación y el desarrollo de hipertrofia, no se encontraron diferencias entre los dos tipos de tratamiento. No se presentaron datos clínicos de infección, ni de rechazo en las áreas donadoras de los pacientes que participaron. Consideramos que los aloinjertos de epidermis cultivada constituyen un recurso valioso en el tratamiento de lesiones de espesor parcial (áreas donadoras, quemaduras de segundo grado y dermoabrasiones), ya que agilizan la epitelización, disminuyen la morbilidad (menor fase de eritema) y son seguros. Se requiere aumentar el número de la muestra para evaluar adecuadamente las alteraciones en la pigmentación y el desarrollo de hipertrofia.

## Summary

A clinical trial was used in the present study in order to compare the clinical outcome of allografts of cultured epidermal cells and dry adherent dressing (fine mesh gauze) used on split-thickness skin graft donor sites. Participated 10 moderate burn patients that required grafting procedures. Both treatments were applied in the same split-thickness skin graft donor sites, randomly placed. The allografts of cultured epidermal cells used were obtained from the foreskin of healthy new born children and were cultured according to the Rheinwald and Green technique in the *Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV)*. Sites treated with allografts of cultured epidermal cells healed in 6-8 days, while the sites treated with dry adherent dressing healed in 10-12 days, ( $p < 0.005$ ). A month after surgery, the coloration (erythema presence) on the sites were checked by means of photographs. It was found that in 6 of the 10 patients, the erythema phase was less with allografts than with control treatment ( $p < 0.01$ ). On the third month after surgery, and also by means of photographs, we evaluated changes on pigmentation and development of hypertrophic scar. There was no difference between the two treatments. There was not clinical data of infection, neither of rejection in the donor sites. We think that the allografts of cultured epidermal cells are a valuable help on the treatment of injuries of partial-thickness (donor sites, partial-thickness burns and abrasions), because healing occurs much more rapidly with less morbidity (less erythema phase) and they are safe. It is required to increase the number of samples so that it can evaluate properly the changes in pigmentation and development of hypertrophic scar.

## Introducción

La principal característica de las lesiones por quemadura es la pérdida de la cubierta cutánea, ya sea en forma parcial (quemaduras de espesor parcial) o en forma total (quemaduras de espesor total). El reemplazo de la piel perdida continua siendo un reto para los cirujanos. El uso de autoinjertos de piel constituye el tratamiento actual para sustituir la piel perdida. Sin embargo, este recurso esta limitado en pacientes extensamente quemados, por la falta de áreas donadoras adecuadas y además se requiere de dos a más semanas para reutilizar una misma área donadora. Debido a que el pronóstico de estos pacientes está determinado por la velocidad en el cierre de sus lesiones, se han utilizado una gran variedad de coberturas temporales que en la mayoría de los casos requieren posteriormente el cierre de las áreas con autoinjertos de piel.

Los avances en las técnicas de cultivo en los últimos 20 años, han permitido obtener a partir de una pequeña biopsia de piel de hasta 1 cm<sup>2</sup>, una gran cantidad de epitelio para cubrir una área equivalente a la superficie corporal total, ya que las células cultivadas, se expanden a un tamaño de 1 000 a 10 000 veces mayor que el de la biopsia original.

Cada colonia se inicia por una sola célula que produce "hojas" confluentes de células epidérmicas, las cuales se han utilizado con fines terapéuticos en pacientes quemados y con áreas cruentas. La principal característica histológica de las células epidérmicas cultivadas es la de queratinocito.

La epidermis cultivada puede provenir del mismo paciente (autoinjertos de epidermis cultivada) o de un donador alogénico (aloinjertos de epidermis cultivada). El uso de estos últimos permite una disponibilidad inmediata para su aplicación. Además, los aloinjertos de epidermis cultivada no expresan los antígenos principales de histocompatibilidad clase II y son fácilmente controlables en su obtención y aplicación desde el punto de vista bacteriológico y virológico (HIV). La experiencia clínica en este campo se basa en investigaciones básicas y en series de casos, donde se ha documentado que son eficaces. Proveen un potente estímulo para la epitelización. Sin embargo, los resultados son difíciles de evaluar, ya que existen muchas variables que pueden modificarlos, por lo que se hizo necesario realizar un ensayo clínico controlado para conocer la utilidad real de este tratamiento, en el que se evaluaron el tiempo de epitelización, coloración (eritema), alteraciones en la pigmentación y desarrollo de hipertrofia. Se utilizaron como modelo experimental áreas donadoras de piel de espesor intermedio, que ofrecen una herida limpia, tangencial y uniforme, semejante en profundidad a las abrasiones y a las quemaduras

de espesor parcial, aplicando el tratamiento experimental (aloinjertos de epidermis cultivada) y el tratamiento testigo (vendaje seco adhesivo con papel de poro fino) en la misma área donadora de manera aleatoria, con lo que se eliminaron las diferencias individuales.

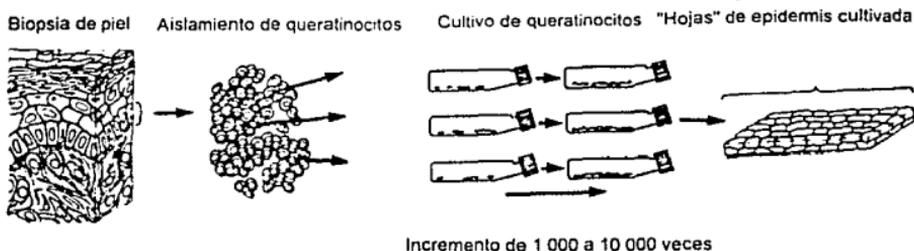
## Antecedentes

A medida que las técnicas de cultivo de tejidos se desarrollaron en la década de 1970, se fueron haciendo intentos para cubrir áreas cruentas con "hojas" de epidermis derivadas de cultivo *in vitro* (1).

En 1975, Rheinwald y Green publicaron un método de cultivo de epidermis, que constituyó la base para el desarrollo de las técnicas actuales. Posteriormente Cohen y colaboradores añadieron el factor de crecimiento epidérmico, polipéptido que incrementa la expansión de las colonias, la eficacia para formarlas y alarga la vida del cultivo (2). La segunda mejora al método fue añadir agentes conocidos como estimuladores del AMP cíclico como la toxina del cólera y el beta-agonista isoproterenol, los cuales mejoran el crecimiento de las colonias de queratinocitos (2).

Cada colonia se inicia con una sola célula que produce "hojas" de células epidérmicas, las cuales son lo suficientemente gruesas para manipularlas sin el uso de soportes mecánicos (3). Con la enzima Dispase (una proteasa neutral del *Bacillus polymyxa*), se puede desprender una capa confluyente de células epiteliales, como una hoja intacta y transferirse al lecho receptor. La principal característica histológica de las células epidérmicas cultivadas es la de queratinocitos (2).

En la actualidad es posible obtener a partir de una pequeña biopsia de piel de hasta 1 cm<sup>2</sup>, una gran cantidad de epitelio para cubrir una área equivalente a la superficie corporal total; ya que las células cultivadas se expanden de 1,000 a 10,000 veces más que el tamaño de la biopsia inicial. Figura 1 (1,4).



**Figura 1.** Método de cultivo de queratinocitos. A partir de una pequeña biopsia de piel, se aíslan los queratinocitos, los cuales se cultivan y se obtienen "hojas" de epidermis cultivada.

O'Connor y colaboradores fueron los primeros en aplicar con éxito los autoinjertos de epidermis cultivada en 2 pacientes con quemaduras de tercer grado. Demostraron que éstos podían sobrevivir en el paciente, con estabilidad a largo plazo y con resultados cosméticos similares a los que se obtuvieron con injertos autógenos convencionales de piel de espesor parcial (5).

Sin embargo, el uso de injertos autógenos de epidermis cultivada está limitado por: 1) el tiempo que requiere (2 a 3 semanas), mientras las células cultivadas son expandidas *in vitro*, un periodo en el cual se pueden desarrollar complicaciones y 2) el lecho receptor debe estar limpio, bien vascularizado y sin infección. Se ha visto que los injertos cultivados, se integran mejor cuando se aplican inmediatamente en áreas recién escindidas (4,5,6)

El uso de epitelio cultivado derivado de un donador alogénico es un desarrollo reciente en este campo (1).

La principal contraindicación de los injertos alogénicos es la posibilidad de producir enfermedad en el huésped. Mediante el método de cultivo esta posibilidad se elimina, ya que los aloinjertos son fácilmente controlables epidemiológicamente en su obtención y aplicación. Poseen un control bacteriológico y virológico (HIV) preciso, se puede disponer de ellos de manera inmediata para su uso, ya que existen bancos de epidermis cultivada. En México se cuenta con esta tecnología en la Unidad de Epidermis del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) (7).

Los aloinjertos convencionales de piel (no cultivada) causan por parte del huésped una reacción de rechazo, que se manifiesta por la presencia de trombosis, hemorragias puntiformes y cese del flujo sanguíneo en el octavo a noveno día después de su aplicación y que termina con la desintegración progresiva y total del aloinjerto (8).

La reacción de rechazo se debe a la presencia de antígenos alogénicos principales de histocompatibilidad clase II en el tejido transplantado. Las únicas células de la epidermis de mamíferos que expresan constitutivamente los antígenos clase II, son las células de Langerhans, las cuales se derivan de la médula ósea y comprenden del 3 al 8% de la población celular epidérmica de los adultos. Los queratinocitos y melanocitos normalmente no expresan los antígenos clase II (9).

Morheen y colaboradores encontraron que al cultivarse la epidermis pierden las células de Langerhans, entre el 7º y el 10º día de cultivo, y por lo tanto, no expresan los antígenos principales de histocompatibilidad clase II (10). Estos hallazgos fueron confirmados por otros autores que llegaron a postular la posibilidad de que estos aloinjertos no se rechazaran, por lo que pudieran servir como sustitutos permanentes

de piel (1,3,6,11,12). Sin embargo, en estudios más recientes se sugiere que los aloinjertos no permanecen *in situ* a largo plazo, y que actúan únicamente como sustitutos temporales que son, finalmente reemplazados por el epitelio del huésped, sin episodio clínico de rechazo o inflamación (1,13,14).

Compton y colaboradores en 1989, informaron en un análisis histopatológico y ultraestructural de autoinjertos de epidermis cultivada aplicados en quemaduras de espesor total, que las células de Langerhans repoblaron los injertos una semana después de su aplicación y alcanzaron su porcentaje normal en 2 a 6 meses (15). En el mismo estudio se informó que los melanocitos están presentes en los cultivos al tiempo del trasplante, pero las unidades funcionales epidérmicas de melanina no se vieron en los autoinjertos derivados de la axila o ingle en 6 a 8 semanas y en un solo caso hasta un año o más después del trasplante (15).

A pesar de la controversia que existe sobre el mecanismo de acción de los aloinjertos, todos los autores coinciden en que éstos producen un potente estímulo para la epitelización, ya sea a través de la liberación de citocinas por parte de las células cultivadas, por efecto autocrino o paracrino, o simplemente como apósito biológico previniendo la deshidratación. Además de disminuir el dolor de las áreas lesionadas (1).

Hefton y colaboradores fueron los primeros en utilizar los cultivos de epidermis alogénica. Publicaron una serie de 3 casos en donde emplearon piel de cadáver, la cual fue cultivada y aplicada en quemaduras de segundo grado profundo con escisión tangencial. Los resultados obtenidos fueron semejantes en las áreas tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada y en las áreas tratadas con autoinjertos de piel de espesor parcial, incluso con menor desarrollo de hipertrofia en las áreas tratadas con aloinjertos. Sin embargo, en un paciente se presentó hipopigmentación del área tratada con aloinjerto, que se pigmentó progresivamente en los siguientes 9 meses postaplicación. No se presentaron datos de rechazo, y ninguna área se infectó (6).

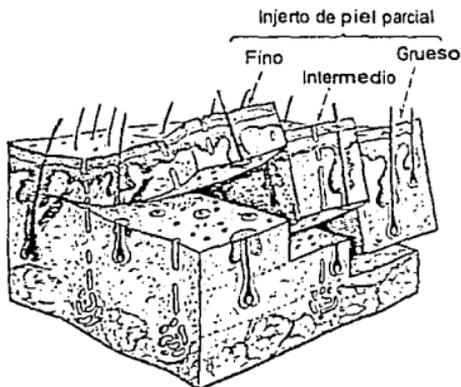
Posteriormente Madden y colaboradores publicaron una serie de casos en 26 pacientes con quemaduras de segundo grado profundo, tercer grado y en áreas donadoras de injertos, tratadas con aloinjertos obtenidos de piel de cadáver. Los resultados en las áreas de segundo grado profundo fueron semejantes a los informados por Hefton. En las áreas de tercer grado los aloinjertos fueron destruidos por sobrecrecimiento bacteriano, ya que la piel cultivada es extremadamente vulnerable a la infección, en las áreas donadoras disminuyó el tiempo de epitelización, así como el dolor (3).

Bolívar-Flores y colaboradores en 1990, informaron una serie de casos en 5 niños, donde utilizaron piel de prepucio de neonatos, la cual fue cultivada y aplicada

en quemaduras de tercer grado. Se obtuvo epitelización en 7 a 10 días después de su aplicación y desarrollaron condiciones para la creación de bancos de epidermis alogénica cultivada (7).

La experiencia clínica con la que se cuenta actualmente en este campo, se basa en investigaciones básicas y en series de casos, donde se ha documentado que al parecer son eficaces (esto es producen más beneficio que daño a los pacientes que se les aplica). Sin embargo, los resultados son difíciles de evaluar debido a que existen muchas variables que los pueden modificar, como el método de cultivo de los queratinocitos, el origen de la piel donada (cadáver, prepucio de neonato), las condiciones médicas del paciente (choque, infección, alteraciones metabólicas, desnutrición), la profundidad de la lesión y el estado del lecho receptor, así como las técnicas quirúrgicas (1), por lo que es necesario realizar un ensayo clínico controlado para conocer la utilidad real de este tratamiento.

Las áreas donadoras de injertos de piel de espesor parcial a diferencia de otro tipo de lesiones semejantes -abrasiones y quemaduras de segundo grado-, poseen ciertas características como posibilidad de controlar la profundidad de la lesión y la obtención de una herida uniforme, tangencial y limpia, por lo que son un modelo experimental adecuado para realizar un ensayo clínico controlado.



**Figura 2. Injerto de piel parcial.** Se muestran los componentes respectivos de los distintos grosores del injerto de piel parcial.

El autoinjerto de espesor parcial es el método más ampliamente usado en el cierre de lesiones por quemaduras de segundo grado profundo y tercer grado. Incluyen la epidermis y una porción de la dermis. El injerto de espesor parcial se subdivide a su vez según la cantidad de dermis que incluya. Estas subdivisiones son: injerto fino de piel de espesor parcial (0.15- 0.20 mm); intermedio (o medio) de espesor parcial (0.20-0.35 mm) y grueso de espesor parcial (0.35-0.53 mm). Figura 2 (16,17).

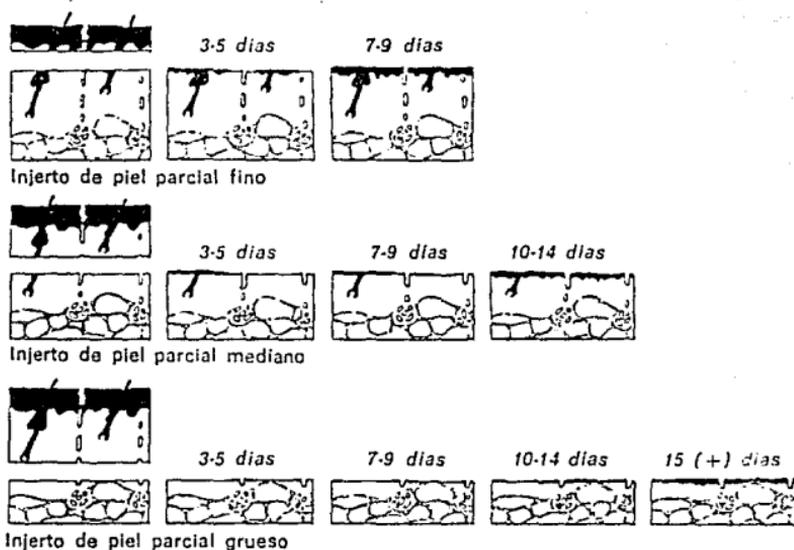


Figura 3. Curación de la zona donadora de injerto de piel parcial de diferentes grosores.

El espesor de un injerto es algo muy relativo, ya que el grosor real de la piel es muy variable, de acuerdo con factores como la edad, el sexo y la región del cuerpo; es más delgada en las mujeres, sobre todo en la capa dérmica, que en los varones. Normalmente es más fina en los niños que en los adultos; sin embargo, a la edad de 5 años, el grosor de la piel del niño es esencialmente el mismo que en el del adulto. Los cirujanos tienden a referirse a los injertos en los términos siguientes: finos, intermedios o gruesos, según coloquen el espesor del dermatomo y también teniendo en cuenta lo translúcidos que sean y el "esquema de hemorragia" del lecho donador (16).

Las áreas donadoras de autoinjertos de espesor intermedio, las abrasiones y las quemaduras de espesor parcial (segundo grado), son lesiones semejantes, en las cuales existe pérdida de la epidermis y de la dermis en forma parcial (18,19). La curación se realiza a través de la epitelización, la cual consiste en que a partir de los restos dérmicos (aparato pilosebáceo y glándulas sudoríparas), surgen múltiples focos epiteliales que se extienden hasta cubrir en su totalidad el área lesionada (19). El proceso de epitelización puede ser dividido en varios eventos separados, que incluyen la desdiferenciación, mitosis y migración, las cuales son responsables de recubrir cualquier área denudada con células epiteliales (20).

Existen factores que influyen en la calidad y velocidad de la epitelización como:

- 1) Profundidad de la lesión, a mayor profundidad mayor tiempo para la epitelización y formación de cicatrices hipertróficas. Las áreas donadoras de injertos de espesor fino epitelizan en 7-9 días, las áreas de injertos de espesor intermedio epitelizan en 10-14 días, mientras que las áreas de injertos de espesor grueso necesitan 14 días o más para epitelizar. Figura 3 (18,19).

La presencia de hipertrofia en la cicatriz del área donadora depende de la profundidad de la toma del injerto: si se lesiona la capa reticular o profunda de la dermis, la cicatriz resultante será hipertrófica (18). Además de la profundidad, debe considerarse la raza. Deitch y colaboradores establecieron una guía para el uso de prendas de compresión para la prevención de cicatrices hipertróficas en lesiones de espesor parcial: a) Si la lesión sana en menos de 10 días, no se requiere el uso de prendas de compresión. b) Si la lesión sana en 10 a 14 días se recomienda prendas de compresión en pacientes de raza negra. c) Si la lesión sana en 14 a 21 días se recomienda prendas de compresión en pacientes de todas las edades y razas. d) Si la lesión toma más de 21 días en sanar, el uso de prendas de compresión es obligatorio

(21). 2) Sitio de la lesión, ya que el grosor de la piel no es uniforme en todo el organismo (18). La superficie anterolateral y posterolateral de los muslos, la superficie lateral de la pantorrilla, la superficie lateral y dorsal de los miembros torácicos, la región lumbar y los glúteos son sitios de piel de grosor intermedio, Cuadro 1 (17).

**Cuadro 1**

Promedio del grosor de Epidermis en micrómetros  
Dermis

Localización	Edad				
	0-5	11-15	16-20	26-30	46-50
Muslo medial	<u>35</u> 583	<u>84</u> 576	<u>50</u> 1020	<u>44</u> 1151	<u>48</u> 1006
Muslo lateral	<u>35</u> 684	<u>83</u> 638	<u>52</u> 111	<u>70</u> 1084	<u>59</u> 1256
Muslo posterior	<u>56</u> 863	<u>86</u> 156	<u>74</u> 1278	<u>61</u> 1151	<u>58</u> 1100

3) Presencia de infección en el área, la cual puede ocasionar necrosis de la dermis remanente, y profundizar la lesión, que puede evolucionar hasta la formación de áreas cruentas (18).

El tratamiento actual de las áreas donadoras, consiste en vendaje seco adhesivo (papel de poro fino), el cual se aplica en las áreas donadoras inmediatamente después de que se tomó el injerto y una vez que se ha obtenido hemostasia por compresión. El manejo postoperatorio es expuesto, aplicando calor local con una lámpara para facilitar su secado y favorecer la epitelización. El papel de poro fino se desprende espontáneamente cuando ha epitelizado por completo el área (17,19).

Todos los pacientes desarrollan eritema (coloración rojiza), en las áreas de lesiones de espesor parcial (zonas donadoras de injertos de piel de espesor parcial, quemaduras de segundo grado y dermoabrasiones). Este eritema comúnmente desaparece de 4 a 8 semanas después de la lesión, pero ocasionalmente dura más de 12 semanas. En ningún caso el eritema persiste permanentemente (22). Las alteraciones en la pigmentación se presentan en las áreas de lesiones de espesor parcial después de la fase de eritema. Son más frecuentes en los individuos con tono de piel más oscura. La hiperpigmentación se presenta en la mayoría de los pacientes y se intensifica cuando la zona eritematosa se expone al sol. Suele durar de 3 a 18 meses y en ocasiones permanece como estigma. La hipopigmentación es menos frecuente y es poco usual que permanezca (22,23).

## Objetivos

1) Comparar los resultados clínicos obtenidos con aloinjertos de epidermis cultivada y vendaje seco adhesivo (papel de poro fino), en las áreas donadoras de piel de espesor intermedio.

a) Demostrar que la epitelización de las áreas donadoras de piel de espesor intermedio, se lleva a cabo en menor tiempo con los aloinjertos de epidermis cultivada, que con el vendaje seco adhesivo (papel de poro fino).

b) Demostrar que los resultados estéticos de las áreas donadoras de piel de espesor intermedio son superiores con aloinjertos de epidermis cultivada, que con el vendaje seco adhesivo (papel de poro fino).

- Demostrar que el eritema (coloración rojiza) en las áreas donadoras de piel de espesor intermedio es menor con los aloinjertos de epidermis cultivada, que con el vendaje seco adhesivo (papel de poro fino), al primer mes postoperatorio.

- Demostrar que las alteraciones de la pigmentación en las áreas donadoras de piel de espesor intermedio son menores con los aloinjertos de epidermis cultivada que con el vendaje seco adhesivo (papel de poro fino), al tercer mes postoperatorio.

- Demostrar que la hipertrofia en las áreas donadoras de piel de espesor intermedio, es menor con los aloinjertos de epidermis cultivada que con el vendaje seco adhesivo (papel de poro fino), al tercer mes postoperatorio.

2) Confirmar que no se presenta evidencia clínica de reacción de rechazo por parte del huésped hacia los aloinjertos de epidermis cultivada.

## Material y método

Previo aprobación del protocolo por el comité local de investigación del Hospital y de la Comisión de Investigación Científica del IMSS, se estudiaron 10 pacientes hospitalizados en la unidad de quemados del Hospital de Traumatología Magdalena de las Salinas, del Instituto Mexicano del Seguro Social, que accedieron voluntariamente, por escrito, a participar en el estudio.

Siete fueron hombres y tres mujeres, con edades entre los 12 y los 41 años (media de 23.4 años) y superficie corporal total quemada del 17 al 30 % (media de 24.6%) de segundo y tercer grado.

Las quemaduras fueron por fuego en siete pacientes y por electricidad en tres.

Los valores de hemoglobina fueron de 10.4 a 13.5 g/dl con una media de 11.7 g/dl, el hematocrito fue de 32 a 40 ml/dl con una media de 34.7 ml/dl, las proteínas totales fueron de 3.1 a 6.4 g/dl con una media de 5.3 g/dl y los valores de albúmina fueron de 2.2 a 3.7 g/dl con una media de 3.1 g/dl.

A todos los pacientes se les tomaron injertos de piel de espesor intermedio (0.20-0.35 mm) de los muslos (4 en la superficie anterolateral, 3 en la superficie anterior, 2 en la superficie posterior y uno en la superficie anteromedial), como parte de su tratamiento, con un dermatomo eléctrico de Brown, por el mismo equipo quirúrgico. Después de realizar hemostasia por compresión con compresas húmedas en solución fisiológica, cada paciente recibió de manera simultánea, la maniobra experimental (aloinjerto de epidermis cultivada) y la maniobra testigo (vendaje seco adhesivo con papel de poro fino), asignados de manera aleatoria (distal o proximal) en la misma área donadora. Los aloinjertos de epidermis cultivada se fijaron con 4 puntos de nylon 5 ceros, uno en cada esquina, para evitar su deslizamiento. El manejo postoperatorio fue expuesto con aplicación de calor local, mediante una lámpara durante las primeras 48 a 72 horas. Los puntos y la tela que cubre al aloinjerto se retiró en el sexto a séptimo día postoperatorio, mediante la irrigación con agua.

A cada paciente se le aplicaron de una (56 cm<sup>2</sup>) a dos (112 cm<sup>2</sup>) unidades de aloinjertos por área donadora.

En cada paciente se registró el tiempo necesario para la epitelización del área experimental y del área testigo, así como la presencia de datos clínicos de infección o rechazo (eritema, edema, lisis del aloinjerto, presencia de material purulento). La coloración del área experimental y testigo, así como las alteraciones en la pigmentación y la hipertrofia de las áreas, se evaluaron mediante fotografías tomadas al primer y tercer mes postoperatorio por dos evaluadores de manera ciega e independiente. La coloración de las áreas donadoras al mes postoperatorio se

clasificó en coloración rojiza (eritema) o no rojiza. Las alteraciones en la pigmentación de las áreas donadoras, se clasificaron en hiperpigmentación cuando el tono del área era más oscuro que el tono de la piel normal adyacente, hipopigmentación, cuando el tono del área era más claro que el tono de la piel normal adyacente y normopigmentación cuando el tono era semejante a la piel normal adyacente. Respecto a la hipertrofia únicamente se registró la presencia o ausencia de la misma en las áreas donadoras.

Los aloinjertos de epidermis cultivada utilizados se obtuvieron del prepucio de recién nacidos sanos que requirieron circuncisión. Una vez obtenido el prepucio, se lavó dos veces (por 10 a 15 segundos), con isodine solución y solución salina de fosfatos (PBS) y diez veces con PBS que contenía penicilina y estreptomina a dosis de 100 g/ml y amikacina a 150 g/ml. Después se almacenó en un medio con suero de becerro al 5% a 4 grados centígrados por 24 a 48 horas, mientras se realizaban las pruebas bacteriológicas. Al encontrar negativas estas pruebas, se llevó a cabo el cultivo. El prepucio se cortó en pequeños fragmentos y se incubó por 24 horas a 4 grados centígrados en 5 ml de tripsina al 0.25%. Al día siguiente se transfirió a un frasco giratorio al cual se le añadió 20 ml de tripsina al 0.25% más versene al 0.22% en una relación de 1:1. Se retiró de la incubación a 37 grados centígrados, agitándolo suavemente durante 30 minutos para obtener una suspensión celular, la cual se filtró a través de una gasa estéril y se centrifugó; las células se resuspendieron en un medio que contenía suero y se sembraron en cajas para cultivo de tejidos de 100 mm de diámetro. Este procedimiento se repitió en 2 ocasiones. Para los cultivos primarios los queratinocitos se sembraron en cajas para cultivo de 100 mm de diámetro a una concentración de  $1 \times 10^6$  en presencia de células 3T3 letalmente tratadas con mitomicina C. Las células se cultivaron con medio de Eagle modificado por Vogt-Dulbecco suplementado con 8% de suero fetal bovino y con  $10^{-10}$  M de toxina del cólera, 5 g/ml de insulina, 5 g/ml de transferrina, 0.4 g/ml de hidrocortisona y triyodotironina al  $2 \times 10^{-9}$  M. El medio de cultivo se cambio diariamente y se le agregó a cada cambio 10 ng/ml de factor de crecimiento epidérmico. Después de 11-14 días de haberse iniciado los cultivos primarios, las células formaron epitelios confluentes, los cuales fueron separados con EDTA al 0.02% y tripsina al 0.15% (1:1). Los cultivos secundarios o terciarios se sembraron en cajas de cultivo de tejidos de 75 cm<sup>2</sup> a una concentración de  $2 \times 10^5$  queratinocitos. Una vez que las células formaron epitelios confluentes, se enviaron a almacenamiento en el banco de epitelio, añadiéndoles medio de cultivo fresco. Se utilizaron aloinjertos con menos de 13 días de almacenamiento. Para su empleo, los epitelios confluentes se incubaron a 37 grados centígrados por 10 a 15 minutos con 2.5 mg/ml de Dispase. Después de la incubación,

las cajas de cultivo se cortaron y se lavaron en tres ocasiones con medio libre de suero con 30mM de HEPES y se cubrieron los epitelios con tela de algodón envaselinada estéril; se separaron los epitelios de la caja de cultivo y se colocaron entre dos rejillas de plástico para su protección y se colocaron en recipientes estériles con medio libre de suero con 30mM de HEPES. Cada recipiente puede transportar 20 epitelios separados por rejillas de plástico, para ser trasladados a quirófano.

Los aloinjertos de epidermis cultivada utilizados en este estudio fueron procesados y donados por la Unidad de Tecnología en Epidermis del Departamento de Biología Celular del CINVESTAV del IPN y provienen de las cepas de queratinocitos HE120 y HE127, a las cuales se les realizó la prueba de HIV-DNA-PCR (reacción de polimerasa en cadena), cuyo resultado fue negativo, Anexo 1.

El análisis estadístico utilizado para los resultados de tiempo de epitelización fue la prueba de Wilcoxon. Para los resultados de coloración y alteración de la pigmentación del área se utilizó la prueba binomial. Así mismo se midió concordancia entre las calificaciones de las variables coloración y alteraciones en la pigmentación con R1 (coeficiente de correlación intraclass).

## Resultados

Las áreas tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada epitelizaron en 6-8 días, con una mediana de 7 días, mientras que las áreas tratadas mediante vendaje seco adhesivo con papel de poro fino epitelizaron en 10-12 días, con una mediana de 11 días, ( $p < 0.005$ ). Cuadro 2 y Figura 4.

PACIENTE	CUADRO 2	
	EPIDERMIS CULTIVADA	CONTROL
	Días	Días
1°	7	11
2°	6	11
3°	7	10
4°	7	11
5°	7	12
6	7	11
7°	7	11
8°	8	12
9°	6	10
10°	7	12
<b>MEDIANA</b>	<b>7</b>	<b>11</b>

( $P < 0.005$ )

# AREAS DONADORAS

## Tiempo de Epitelización

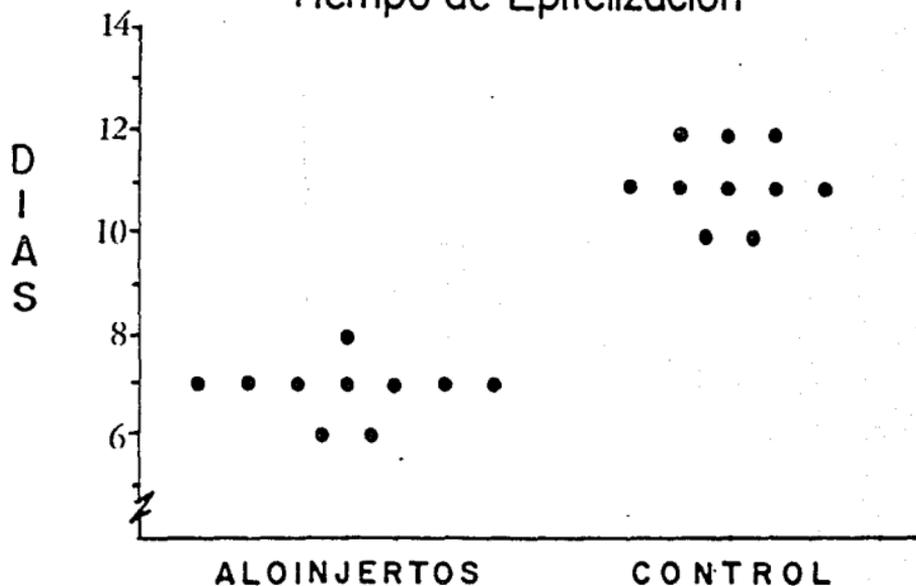


FIGURA 4 Tiempo de epitelización en áreas donadoras de piel de espesor intermedio tratadas con ALOINJERTOS de EPIDERMIS CULTIVADA y vendaje seco adhesivo (papel de poro fino)

Al epitelizar, las áreas donadoras tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada, presentaron coloración rosácea, al igual que las áreas testigo. Un mes después de la intervención 6 de las 10 áreas tratadas con aloinjertos, no presentaron coloración rojiza (eritema), sino normopigmentación en 2 áreas e hipopigmentación en 4 áreas, en las cuales se normalizó la pigmentación al tercer mes postoperatorio ( $p < 0.01$ ). En tanto que en las 4 áreas experimentales restantes, la coloración fue rojiza, semejante a la observada en las 10 áreas testigo. Cuadros 3 y 4.

### CUADRO 3

#### COLORACION DE LAS AREAS DONADORAS AL MES POSTOPERATORIO.

	ALOINJERTO	CONTROL
ROJIZO	4	10
NO ROJIZO	6	0

#### CUADRO 4

PACIENTES	COLORACION DE LAS AREAS	
	DONADORAS AL MES POSTOPERATORIO. EPIDERMIS CULTIVADA	CONTROL
1°	ROJIZA	ROJIZA
2°	ROJIZA	ROJIZA
3°	NO ROJIZA (Hipopigmentada)	ROJIZA
4°	NO ROJIZA (Normopigmentada)	ROJIZA
5°	ROJIZA	ROJIZA
6°	NO ROJIZA (Hipopigmentada)	ROJIZA
7°	NO ROJIZA (Hipopigmentada)	ROJIZA
8°	NO ROJIZA (Hipopigmentada)	ROJIZA
9°	ROJIZA	ROJIZA
10°	NO ROJIZA (Normopigmentada)	ROJIZA

(p < 0.01)

Seis de las 10 áreas testigo evolucionaron, de coloración rojiza al mes postoperatorio, a pigmentación semejante a las áreas tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada, por lo que tres meses después de la intervención, 6 de los 10 pacientes no mostraron diferencia en la pigmentación entre el área experimental y testigo. Cuatro de estos pacientes mostraron normopigmentación y dos pacientes mostraron hiperpigmentación en ambas áreas. De los 4 pacientes restantes, tres mostraron normopigmentación en el área experimental, en tanto que el área testigo, continuaba de coloración rojiza. Un paciente mostró hiperpigmentación del área experimental e hipopigmentación del área testigo. Cuadro 5.

#### CUADRO 5

#### ALTERACION EN LA PIGMENTACION DE LAS AREAS DONADORAS.

PACIENTE	EPIDERMIS CULTIVADA	CONTROL
1°	Hiperpigmentada	Hiperpigmentada
2°	Normopigmentada	Rojiza
3°	Normopigmentada	Rojiza
4°	Normopigmentada	Normopigmentada
5°	Normopigmentada	Normopigmentada
6°	Normopigmentada	Normopigmentada
7°	Hiperpigmentada	Hipopigmentada
8°	Normopigmentada	Normopigmentada
9°	Hiperpigmentada	Hiperpigmentada
10°	Normopigmentada	Rojiza
TOTAL	7 Normopigmentadas 3 Hiperpigmentadas	4 Normopigmentadas 2 Hiperpigmentadas 3 Rojizas 1 Hipopigmentada

Las diferencias encontradas en alteraciones en la pigmentación no fueron significativas estadísticamente.

La presencia de hipertrofia en las áreas donadoras, también se evaluó al tercer mes postoperatorio. Únicamente 3 pacientes desarrollaron hipertrofia en las áreas donadoras, de los cuales 2 pacientes presentaron hipertrofia en las áreas experimentales y en las áreas controles y un paciente desarrolló hipertrofia sólo en el área experimental. Cuadro 6.

### CUADRO 6

#### HIPERTROFIA EN LAS

#### AREAS DONADORAS.

PACIENTE	EPIDERMIS CULTIVADA	CONTROL
1º	HIPERTROFIA	HIPERTROFIA
2º		
3º		
4º		
5º		
6º		
7º	HIPERTROFIA	
8º		
9º	HIPERTROFIA	HIPERTROFIA
10º		

No se presentaron datos clínicos de infección ni de rechazo en las áreas donadoras de los pacientes que participaron.



**Figura 5.** Fotografías clínicas del paciente número 10. En la fotografía superior se observa la mitad proximal del área donadora tratada con aloinjerto y la mitad distal con vendaje seco adhesivo, al 4° día postoperatorio. En la fotografía inferior se aprecia que al 7° día postoperatorio, la mitad proximal, tratada con aloinjerto, está epitelizada, en tanto que la mitad distal aún no ha epitelizado

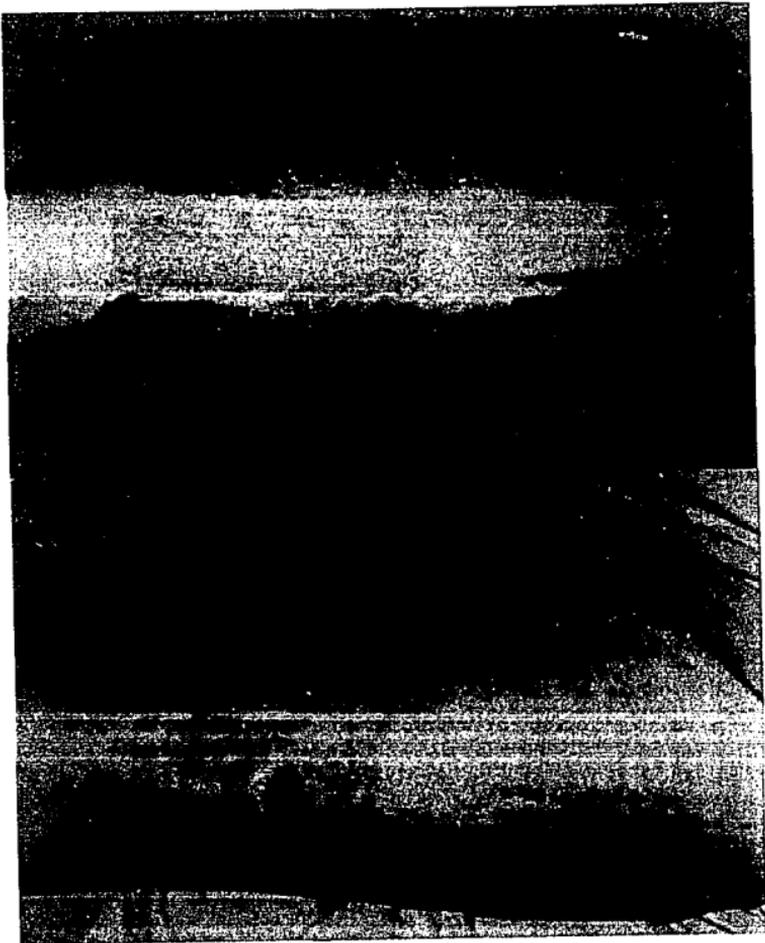


Figura 6. Fotografías clínicas del paciente número 10. En la fotografía superior, al mes postoperatorio, se observa normopigmentación en la mitad proximal, tratada con aloinjerto, en tanto que la mitad distal, tratada con vendaje seco adhesivo, presenta coloración rojiza. En la fotografía inferior, al 3er. mes postoperatorio, se aprecia normopigmentación en la mitad proximal y persiste la coloración rojiza en la mitad distal.

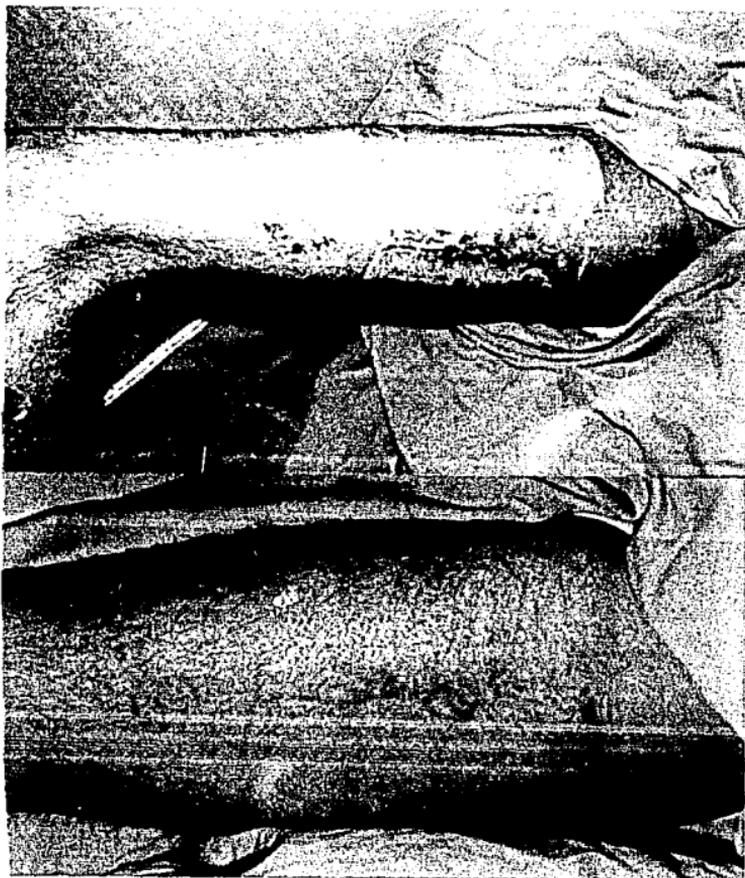


Figura 7. Fotografías clínicas del paciente número 3. Un mes después de la intervención. La zona hipopigmentada que se ve al centro recibió aloinjerto. El área rojiza distal a la anterior recibió vendaje seco adhesivo. La zona cuadrangular de coloración rojiza, proximal al área hipopigmentada, se usó como zona donadora una semana después del primer tratamiento. En la fotografía inferior se aprecia que la zona tratada con aloinjerto está normopigmentada, en tanto que la zona distal, tratada con vendaje seco adhesivo presenta coloración rojiza al tercer mes postoperatorio.

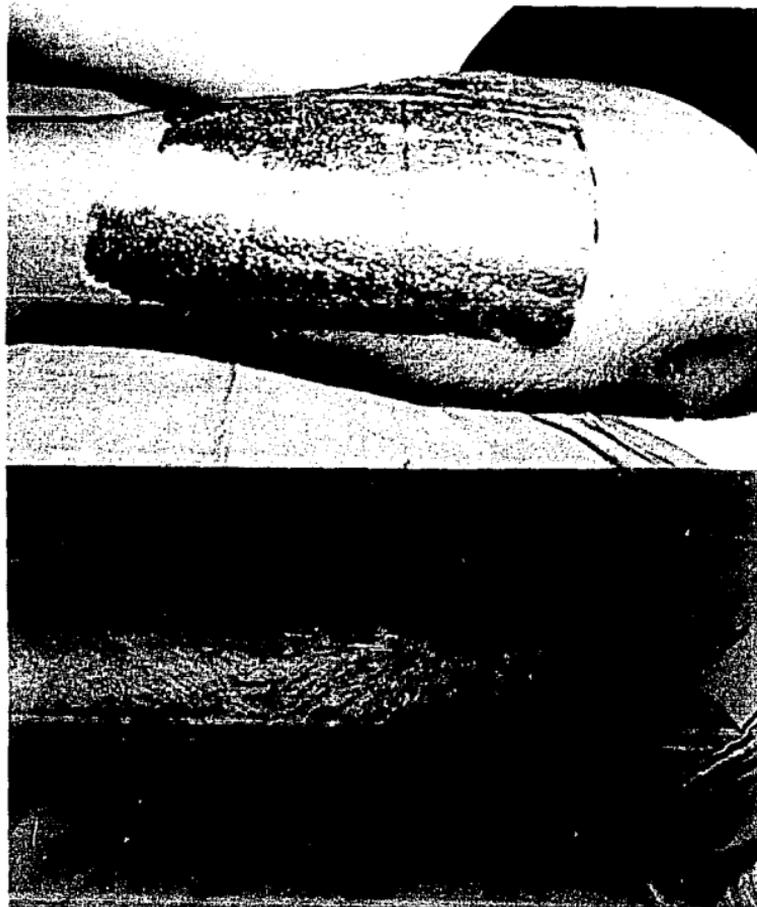


Figura 8. Fotografías clínicas del paciente número 1. En la fotografía superior se muestra la zona proximal, tratada con aloinjerto, y la distal, tratada con vendaje seco adhesivo, al mes postoperatorio. Ambas zonas presentan coloración rojiza. En la fotografía inferior, al 3er. mes postoperatorio, se aprecia que tanto el área tratada con aloinjerto, como la tratada con vendaje seco adhesivo, desarrollaron hipertrofia.

## **Discusión**

Se realizó un ensayo clínico controlado para investigar la utilidad de los aloinjertos de epidermis cultivada en lesiones de espesor parcial, específicamente en áreas donadoras de piel de espesor intermedio, ya que la experiencia clínica con la que se cuenta actualmente en este campo, se basa en investigaciones básicas y en series de casos, donde los resultados son difíciles de evaluar, debido a que existen muchas variables que los pueden modificar, como el método de cultivo de los queratinocitos, el origen de la piel cultivada, las condiciones médicas del paciente, el estado del lecho receptor, así como las técnicas quirúrgicas empleadas (1).

Se eligieron áreas donadoras de piel de espesor intermedio como modelo experimental, porque son semejantes a las quemaduras de segundo grado y a las dermoabrasiones (18,19) y poseen características que hacen posible el control de variables como profundidad de la lesión, al utilizar un dermatomo con calibrador, y el grosor de la piel, al elegir una área anatómica, en este caso los muslos (16,17). Además las áreas donadoras son heridas uniformes, tangenciales y limpias, cuyo mecanismo de cierre es la epitelización (19) y es en este proceso regenerativo, donde actúan los aloinjertos de epidermis cultivada, ya sea a través de la liberación de citocinas por parte de las células cultivadas, por efecto autocrino o paracrino o simplemente como apósito biológico que evita la deshidratación (1).

El aplicar ambos tratamientos (aloinjertos y vendaje seco adhesivo), en la misma área donadora hace posible eliminar las diferencias individuales (24). Al ser cada paciente su propio control, las variables nutrición, alteraciones metabólicas, anemia, inmunosupresión e infección, son iguales para ambos tratamientos. Así mismo, se evita que los resultados sean modificados por variables extrañas no previstas, lo que le da al estudio gran validez interna (25).

El tiempo de epitelización de áreas donadoras, se eligió como variable dependiente por su importancia clínica, ya que el pronóstico del paciente quemado depende de la velocidad en el cierre de sus heridas. La variable eritema (coloración

rojiza) se evaluó para conocer si era modificada por la aplicación de aloinjertos. Las variables alteraciones en la pigmentación y desarrollo de hipertrofia se escogieron para conocer si en realidad eran menores con los aloinjertos, como se menciona en varias series de casos (3,6). Por último, la variable evidencia clínica de reacción de rechazo, se evaluó para confirmar los hallazgos de otros autores (3,6,7,10,11,13,14).

No fue posible evaluar la variable dolor en este estudio, ya que se requiere aplicar los diferentes tratamientos en distintas áreas anatómicas.

Se realizaron mediciones un mes después de la intervención, porque la fase de eritema se manifiesta del primer al tercer mes postoperatorio (22), y al tercer mes porque es cuando ya se manifestaron las alteraciones en la pigmentación y el desarrollo de hipertrofia (22,23).

El tiempo de epitelización de las áreas donadoras tratadas con aloinjertos fue significativamente menor que el obtenido con el tratamiento control. Este resultado es semejante al publicado por Madden y colaboradores, quienes lo aplicaron a 5 pacientes en áreas donadoras, donde se obtuvo la epitelización de las áreas tratadas con aloinjertos en 7 días (3).

La fase de eritema (coloración rojiza) un mes después de la operación fue también significativamente menor en las áreas tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada. Este resultado es importante y no se había explorado previamente. La fase de eritema corresponde a hipervascularidad e inflamación con la presencia de numerosos capilares, fibroblastos y células mononucleares (17,18). Durante esta fase es frecuente la formación de flictenas y estasis sanguínea, que aumenta la morbilidad de las áreas donadoras y suele durar 3 meses (22). Por lo anterior, los aloinjertos de epidermis cultivada disminuyen la morbilidad de las áreas donadoras y podrían tener aplicación en lesiones semejantes, como las dermoabrasiones, donde el eritema constituye una complicación importante.

Hefton y colaboradores también informaron, alteración en la pigmentación de las áreas tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada (hipopigmentación), en tres

pacientes con quemaduras de segundo grado profundo, tratadas con aloinjertos, pero su duración fue más prolongada (9 meses) (6).

Al tercer mes postoperatorio, no se encontraron diferencias en la pigmentación entre las áreas tratadas con aloinjertos de epidermis cultivada y las áreas tratadas con vendaje seco adhesivo (papel de poro fino).

El desarrollo de hipertrofia en las áreas donadoras también fue semejante en los dos tipos de tratamientos aplicados, este resultado difiere del informado por Hefton y Madden, quienes refieren menor desarrollo de hipertrofia en las áreas de quemaduras de segundo grado profundo tratadas con aloinjertos (3,6).

Es importante mencionar que en este estudio, el número de pacientes participantes fue insuficiente para demostrar diferencias en las variables alteración de la pigmentación y desarrollo de hipertrofia. No se encontraron reacciones clínicas de rechazo en las áreas donadoras de los pacientes, con lo que se confirma lo informado por otros autores (3,6,7,10,11,13,14).

Para comparar tiempo de epitelización, se utilizó la prueba de Wilcoxon por tratarse de muestras relacionadas cuya escala de medición fue de proporción (25). Para las variables coloración y alteraciones en la pigmentación, se utilizó la prueba binomial ya que la frecuencia esperada era pequeña (menor de 5), la escala de medición fue nominal y por ser muestras relacionadas (25).

Desde el punto de vista costo-beneficio, en las situaciones donde los pacientes permanecen hospitalizados hasta que las zonas donadoras han epitelizado por completo, puede existir un ahorro importante con el uso de aloinjertos de epidermis cultivada, ya que se reduciría en por lo menos cuatro días la estancia hospitalaria. Por otro lado, los aloinjertos de epidermis cultivada reducen el tiempo que se requiere para reutilizar las áreas donadoras con lo que el paciente obtiene de manera más rápida áreas disponibles para toma de autoinjertos cuando se requieran, por lo que se reduciría también el tiempo de estancia hospitalaria.

## **Conclusiones**

Los aloinjertos de epidermis cultivada constituyen un recurso valioso en el tratamiento de lesiones de espesor parcial.

Es posible obtener una gran cantidad de epitelio cultivado a partir de una pequeña biopsia de piel, se encuentran disponibles de manera inmediata, son seguros, de fácil aplicación y no estimulan la reacción de rechazo por parte del huésped.

Disminuyen significativamente el tiempo de epitelización de las lesiones de espesor parcial y esto podría mejorar el pronóstico y bienestar del paciente, además de acortar los días de estancia hospitalaria.

También disminuyen significativamente la fase de eritema de las lesiones de espesor parcial, con lo que se reduce la morbilidad en estas áreas.

Los resultados estéticos (pigmentación y desarrollo de hipertrofia), obtenidos en el presente estudio, no parecen mostrar diferencias entre los dos tipos de tratamiento, aun cuando la muestra es pequeña y no ofrece suficiente potencia para demostrarlo.

## Referencias

1. Phillips T. Cultured skin grafts. *Arch Dermatol* 1988;124:1035-38.
2. Green H, Kehinde O, Thomas J. Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:5665-68.
3. Madden M, Finkelstein J, Staiano-Coico L, Goodwin C, Shires G, Nolan E, Hefton J. Grafting of cultured allogeneic epidermis on second- and third-degree burn wounds on 26 patients. *J Trauma* 1986;26:955-962.
4. Woodley D. Covering wounds with cultured keratinocytes. *JAMA* 1989;262:2140-41.
5. O'Connor N, Mulliken J, Banks-Schlegel S, Kehinde O, Green H. Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet* 1981;1:75-78.
6. Hefton J, Madden M, Finkelstein J, Shires G. Grafting of burn patients with allografts of cultured epidermal cells. *Lancet* 1983;2:428-30.
7. Bolivar-Flores J, Pournian E, Marsch-Moreno M, Montes de Oca G, Kuri-Harcuch W. Use of cultured human epidermal keratinocytes for allografting burns and conditions for temporary banking of the cultured allografts. *Burns* 1990;16:3-8.
8. Shons A. Transplantation biology. En: McCarthy J, ed. *Plastic Surgery*. Saunders Company, 1990:186-206.

9. Cuono C, Langdon R, Birchall N, Barttelbort S, McGuire J. Composite autologous-allogeneic skin replacement: development and clinical application. *Plast Reconstruct Surg* 1987;80:626-635.
10. Morhenn .V, Benike C, Cox A, et al. Cultured human epidermal cells do not synthesize HLA-DR. *J Invest Dermatol* 1982;78:32-7.
11. Thivolet J, Faure M, Demidem A, Mauduit G. Long-term survival and immunological tolerance of human epidermal allografts produced in culture. *Transplantation* 1986;42:274-80.
12. Faure M, Mauduit G, Schmitt D, et al. Growth and differentiation of human epidermal cultures used as auto- and allografts in humans. *Brit J Dermatol* 1987;116:161-70.
13. Gielen V, Faure M, Mauduit G, et al. Progressive replacement of human cultured epithelia allografts as evidenced by HLA class I antigen expression. *Dermatologica* 1987;175:166-70.
14. Phillips T, Bhawan J, Leight I, et al. Cultured epidermal allografts: Clinical use, survival and expressions of maturation markers. *Clin Res* 1988;36:684A.
15. Compton C, Gill J, Bradford D, Regauer S, Gallico G, O'Connor N. Skin regenerated from cultured epithelial autografts on full-thickness burn wounds from 6 days to 5 years after grafting. *Lab Invest* 1989;60:600-12.
16. Grabb W. Técnicas fundamentales de cirugía plástica. En: Grabb W, Smith J, eds. *Cirugía Plástica*. Salvat Editores S.A., 1984:3-72.

17. Moncrief J. Grafting. En: Artz C. Moncrief J, Pruitt B, eds. Burns: A Team Approach. W.B. Saunders Co., 1979:272-98.
18. Kazanjian V, Converse J. Healing of wounds. En: Kazanjian V, Converse J, eds. The Williams and Wilkins Company/Baltimore., 1974:37-58.
19. McGregor I. Técnicas fundamentales en cirugía plástica y sus aplicaciones quirúrgicas. Salvat Editores S.A., 1984:57-104.
20. Peacock Jr E, Cohen I. Wound healing. En: McCarthy, ed. Plastic Surgery. W.B. Saunders Company., 1990:162-85.
21. Carr-Collins J. Pressure techniques for the prevention of hypertrophic scar. En: Salisbury R, ed. Clinics in Plastic Surgery. W.B. Saunders Company., 1992:733-43.
22. Baker T, Stuzin J. Chemical peeling and dermoabrasion. En: McCarthy J, ed. Plastic Surgery. W.B. Saunders Company., 1990:78-86.
23. Rubin M. Trichloroacetic acid and other non-phenol peels. En: Menick F, ed. Clinics in Plastic Surgery. W.B. Saunders Company., 1992:525-36.
24. Greene J, Oliveira M. Diseños experimentales. En: Greene J, Oliveira M, eds. Pruebas Estadísticas para Psicología y Ciencias Sociales. Editorial Norma S.A., 1984:8-2925.
25. Siegel S. El caso de dos pruebas relacionadas. En: Siegel S, ed. Estadística no paramétrica. Editorial Trillas.,1985:84-119.



ANEXO 1

CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL I.P.N.  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR

Diciembre 14, 1992

DRA. MARIA TERESA RIVAS  
Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva  
Hospital de Traumatología Magdalena de las Salinas

Estimada Dra. Rivas

Por medio de la presente me permito informar a usted que con el fin de continuar con nuestro programa riguroso de control de calidad de las células que en la Unidad de Tecnología de Epidermis del CINVESTAV, reconocida como Banco de Organos y Tejidos, Excepto Sangre y Hemoderivados, Registro No. 1007017887, se utilizan para la producción de aloinjertos de epidermis cultivada in vitro, enviamos una muestra alícuota de las cepas de queratinocitos HE120 y HE127 para su certificación, por la prueba de HIV-DNA-PCR (reacción de polimerasa en cadena), de ausencia de virus del SIDA. Estas dos cepas resultaron ser negativas para dicho virus utilizando la prueba mencionada, que es la prueba más sensible y adecuada actualmente para estos propósitos.

Adjunto a usted copia de los resultados de la prueba realizada por Specialty Laboratories, Inc. de California, que son laboratorios reconocidos en los Estados Unidos para llevar a cabo esta prueba, y que demuestran que las cepas mencionadas que utilizamos en la manufactura de los aloinjertos de epidermis cultivada in vitro, se encuentran negativas de dicho virus.

Sin más por el momento, me despido de usted y agradezco de antemano su atención.

Atentamente,

  
Biol. Alicia Beltrán Langarica

ANEXO 1



SPECIALTY LABORATORIES, INC.  
 OncQuest, Inc.  
 2211 MICHIGAN AVENUE  
 SANTA MONICA, CA 90404-3900  
 (310) 828-6543 (800) 421-7110

FEDERICO CASTRO, PHD  
 DEPT OF CELL BIOLOGY  
 CINVESTAV DEL I PN  
 PO BOX 14-740  
 MEXICO CITY, MEXICO 07000

ACCOUNT NUMBER 34549	BILL COLLECTION NUMBER 8117572
PATIENT NAME HE127,4	
REFERRING PHYSICIAN FEDERICO CASTRO, PHD	
NOTES	
IDENTIFIED NUMBER	CLAWN
RECEIVED 28-SEP-1992	REPORTED 02-OCT-1992

TEST NAME -----	RESULTS -----	REFERENCE RANGES -----
S-ECIMEN HIV-1 DNA by PCR	Cells Not detected	Not detected

CLINICAL RESULTS FOR HIV-1 DNA BY PCR ARE DERIVED FROM MONONUCLEAR LEUKOCYTES RECOVERED FROM HEPARIN OR ACD ANTICOAGULATED WHOLE BLOOD ACCORDING TO ESTABLISHED PROCEDURAL GUIDELINES. RESULTS DERIVED FROM SPECIMEN SOURCES SUCH AS NEEDLES, SYRINGES, I.V. CATHETERS, ETC., WHICH DO NOT CONFORM TO PRESCRIBED SPECIMEN REQUIREMENTS ARE CONSIDERED OF INVESTIGATIVE/RESEARCH INTEREST ONLY. THESE RESULTS, THEREFORE, SHOULD NOT BE USED BY THEMSELVES FOR CLINICAL DIAGNOSTIC OR FORENSIC PURPOSES.



**SPECIALTY LABORATORIES, INC.**  
**OncQuest, Inc.**  
2211 MICHIGAN AVENUE  
SANTA MONICA, CA 90404-3900  
(310) 828-6543 (800) 421-7110

ANEXO 1

FEDERICO CASTRO, PHD  
DEPT OF CELL BIOLOGY  
CINVESTAV DEL I PN  
PO BOX 14-740  
MEXICO CITY, MEXICO 07000

ACCOUNT NUMBER 34549	BILL COLLECTION NUMBER 8117550
PATIENT NAME HE120, 5	
REFERRING PHYSICIAN FEDERICO CASTRO, PHD	
NOTES	
PATIENT ID NUMBER	GROUP
RECEIVED 28-SEP-1992	REPORTED 02-OCT-1992

TEST NAME -----	RESULTS -----	REFERENCE RANGES -----
SPECIMEN HIV-1 DNA by PCR	Cells Not detected	Not detected

CLINICAL RESULTS FOR HIV-1 DNA BY PCR ARE DERIVED FROM MONONUCLEAR LEUKOCYTES RECOVERED FROM HEPARIN OR ACD ANTICOAGULATED WHOLE BLOOD ACCORDING TO ESTABLISHED PROCEDURAL GUIDELINES. RESULTS DERIVED FROM SPECIMEN SOURCES SUCH AS NEEDLES, SYRINGES, I.V. CATHETERS, ETC., WHICH DO NOT CONFORM TO PRESCRIBED SPECIMEN REQUIREMENTS ARE CONSIDERED OF INVESTIGATIVE/RESEARCH INTEREST ONLY. THESE RESULTS, THEREFORE, SHOULD NOT BE USED BY THEMSELVES FOR CLINICAL DIAGNOSTIC OR FORENSIC PURPOSES.

© Denote(s) performed by  
OncQuest, Inc., Division of Specialty Laboratories, Inc.  
3520 Dunhill St, San Diego CA 92121-1201

\* Specialty Laboratories, Inc. 1991  
MS-003 (1/92)

FINAL REPORT

*James E. Pratt*  
Page: 1  
James E. Pratt, M.D., Ph.D.