



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

THE AMERICAN BRITISH COWDRAY MEDICAL CENTER I.A.P.

CÁTEDRA DE CIRUGÍA "CARLOS PERALTA"

"AUTOTRASPLANTE DE TEJIDO PERITONEAL COMO
MODIFICADOR Y ACELERADOR DE LA CICATRIZACIÓN
CUTÁNEA, MODELO EXPERIMENTAL EN RATAS"

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA ESPECIALIDAD EN:

CIRUGÍA GENERAL

PRESENTA:

DR. RAÚL ESPARZA ITURBIDE

PROFESOR TITULAR DEL CURSO:
DR. JORGE CERVANTES CASTRO

PROFESORES ADJUNTOS:
DR. GUILLERMO ALFONSO ROJAS REYNA
DR. FELIPE CERVANTES MONTEIL
DR. EDUARDO MORENO PAQUENTIN

ASESORES:

DR. ALBERTO CHOUSLEB KALACH
DRA. MARIA DEL CARMEN HERNÁNDEZ BARO



MÉXICO, D.F.

2010



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.

Dr. José Halabe Cherem
Jefe de la División de Enseñanza e Investigación
The American British Cowdray Medical Center

Dr. Jorge Cervantes Castro
Profesor Titular del Curso de Cirugía General
The American British Cowdray Medical Center

Dr. Guillermo Alfonso Rojas Reyna
Profesor Adjunto del Curso de Cirugía General
The American British Cowdray Medical Center

Dr. Felipe Cervantes Monteil
Profesor Adjunto del Curso de Cirugía General
The American British Cowdray Medical Center

Dr. Eduardo Moreno Paquentin
Profesor Adjunto del Curso de Cirugía General
The American British Cowdray Medical Center

***Así extirparé el cáncer de mi fatiga dura,
seré impasible por el Este y el Oeste,
asistiré con una sonrisa depravada
a las ineptitudes de la inepta cultura,
y habrá en mi corazón la llama que le preste
el incendio sinfónico de la esfera celeste.***

Ramón López Velarde

AGRADECIMIENTO

A Dios, por el todo de mi existencia!

a mi Mama, la más hermosa de las bendiciones que pude recibir, a mi Mama por enseñarme a luchar y nunca rendirme, a ella quien con sus manos tejió el destino de mi vida y me mostró el respeto, la integridad, la pasión, el trabajo y el amor, a ti mama que me hiciste como soy y gracias a ti, aquí estoy, todos mis triunfos serán tuyos. Ahora siempre estarás conmigo.

A mi Papa, el más completo de mis amigos y maestros, el más desinteresado consejero y mentor, el más confiable y sincero Padre. A mi Papa por enseñarme el honor y la fuerza, el respeto y la cordura el trabajo y la rectitud, el estudio y la perseverancia. A ti Papa por ser el más poderoso y firme ejemplo en mi vida, tú forjaste el camino en ella, mis victorias llevarán tu nombre Papa!.

A mis nanas, Ofita y Amalia, quienes entregaron su vida para convertirnos en hombres y mujeres de bien, a ellas que me enseñaron la sinceridad y la fidelidad, el cariño y el sentimiento, la alegría de trabajar y el amor verdadero, a ustedes Chaga y Ofita gracias por regalarme la bendición de ser mis Madres!

A mis hermanos Luis Raúl, Gaby, Claudia, Jorge, Dinorah y Mitzi, gracias por enseñarme a trabajar en equipo, a defenderme, a vivir y a divertirme, gracias por apoyarme en todo. Gracias por guiarme.

A mis maestros quienes contribuyeron en mi formación y quienes aportaron sus conocimientos y enseñanzas para permitirme seguir adelante.

A mis Amigos por sus ocurrencias y alegría!!

COLABORADORES.

Dr. José Curiel Valdés. Análisis Histológico
Personal del Centro de Investigación y Capacitación Quirúrgica del Centro Médico ABC,
México D.F.

Biotério de la Facultad de Medicina de la UNAM.
Cátedra de Cirugía "Carlos Peralta" CMABC.

Mic. Evelia Itandehui Mejía Emicente. Asesor Metodológico

Dra. Verónica Sosa. Revisor de Bioestadística

ÍNDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Marco teórico.....	3
Planteamiento del problema.....	4
Justificación.....	5
Objetivos.....	6
Hipótesis.....	7
Material y Métodos.....	9
Análisis Estadístico.....	13
Resultados.....	13
Discusión.....	21
Conclusiones.....	22
Bibliografía.....	22

RESUMEN

A través de la historia el médico ha buscado la forma de acelerar o mejorar el proceso de cicatrización cutánea, debido a la existencia de enfermedades tanto sistémicas como locales que retrasan, perturban o evitan dicho proceso, como los son la diabetes, la insuficiencia vascular, quemaduras, desnutrición e infecciones. Para estimular la cicatrización cutánea se han utilizado métodos tanto físicos como químicos, obteniendo resultados variables, que van desde la aplicación de compuestos naturales tan rudimentarios como la miel, hasta la colocación de sustitutos de piel sintéticos desarrollados por la ingeniería tisular.

La membrana peritoneal, está compuesta por millones de células mesoteliales, quienes son responsables de generar el proceso de cicatrización más rápido en el humano, gracias a que sintetizan una amplia gama de factores cicatrizantes y de desarrollo celular, además de poseer la capacidad de diferenciarse en otras series celulares (plasticidad). Dichas células han sido usadas en miocardio, hueso y nervio periférico con resultados positivos de regeneración celular. Actualmente no existe en la literatura ningún trabajo que haya usado células mesoteliales para estimular la cicatrización cutánea.

METODOLOGIA. Estudio de experimental, prospectivo, realizado en el Centro de Investigación y Capacitación Quirúrgica del Centro Médico ABC, México D.F. Se estudiaron 15 ratas hembras, cepa Winstar donadas por el Biotério Central de la Facultad de Medicina, UNAM, las cuales se dividieron en 2 grupos: Grupo I (n = 5) control, y grupo II (n = 10) experimental.

En el grupo experimental o grupo II se realizó escisión de piel en región dorsal de espesor total, además de mini laparotomía para toma de tejido peritoneal, el cual fue implantado en la herida dorsal inmediatamente después de su toma. En el grupo control o grupo I, solo se extrajo piel de región dorsal de espesor total. En ambos casos se realizó cierre por segunda intención.

A los 8 días de postoperatorio se realizó biopsia de tejidos dorsales en ambos grupos para comparación morfológica e histopatológica de la cicatrización cutánea.

RESULTADOS. En el grupo I control, se encontró mayor retracción, mayor presencia de células inflamatorias, macrófagos y fibroblastos. En el grupo II experimental, se encontró mayor presencia de colágeno (> 100%), ausencia de células inflamatorias y macrófagos, así como nula retracción. Lo que indica una mejor y más avanzada fase de cicatrización en el grupo II experimental. El análisis estadístico encontró significancia en 5 de las 6 variables analizadas, lo que muestra un periodo más adelantado de cicatrización en el grupo II experimental que en el grupo I control.

CONCLUSIONES. El autotrasplante de células mesoteliales peritoneales en heridas cutáneas de espesor total, acelera la cicatrización, aumenta significativamente los niveles de colágeno, disminuye la retracción y la inflamación, y mejora las características estéticas de la cicatriz en las ratas. Las células mesoteliales peritoneales son potentes estimuladores de la cicatrización cutánea, moduladores de la inflamación e inhibidores de la retracción cutánea, mejorando el aspecto estético de la cicatriz.

PALABRAS CLAVE. Células mesoteliales, trasplante peritoneal, estimuladores de cicatrización cutánea, autotrasplante peritoneal, aceleración de cicatrización cutánea, Injerto de células mesoteliales.

INTRODUCCIÓN

El proceso de cicatrización cutánea se compone de 6 fases principales; Hemostasis e inflamación, proliferación, síntesis de la matriz, maduración y remodelación, epitelización y contracción de la herida. En condiciones normales, el proceso primario de cicatrización se lleva a cabo en un tiempo de 7 días mínimo promedio desde la lesión tisular¹⁶. Durante este proceso existe una cascada de factores de crecimiento y células que interactúan de forma armoniosa, para que el proceso se realice normalmente, como lo son fibroblastos, miofibroblastos, células musculares lisas, células endoteliales, queratinocitos, y células inmunes.¹⁹

Existen múltiples tratamientos para estimular y/o acelerar la regeneración cutánea en pacientes con pérdida extensa de piel o con enfermedades que retrasan la cicatrización. Se han usado múltiples tejidos, desde membranas amnióticas, hasta sustancias proteicas tópicas. Además existen diferentes tejidos usados como, aloinjertos, apósitos biológicos o naturales, sustitutos aloplásticos, de elaboración artificial, con materiales de procedencia biológica y/o sintéticos inertes, cultivos in vitro por explantación de células epidérmicas y/o dérmicas. Todos ellos con resultados y costos variables¹⁵. También han sido utilizadas moléculas como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, con excelentes resultados, pero su costo lo hace poco aplicable. La realidad es que los pacientes con este tipo de problema rara vez tienen a su alcance estos métodos terapéuticos, debido a su baja disponibilidad y altos costos en países subdesarrollados.

MARCO TEÓRICO

Existen enfermedades y factores que se relacionan con el retraso y/o déficit de la cicatrización, y que se presentan comúnmente en nuestro medio, como tabaquismo, diabetes mellitus, hipertensión arterial, insuficiencia vascular periférica, trombosis venosa profunda, defectos en la síntesis de colágena, cáncer, quemaduras y trastornos nutricionales.¹⁵ Estas patologías presentan defectos en la cicatrización ya sea por retraso del proceso o mala calidad del tejido adyacente, y una vez corregido el problema de base como hiperglicemia o desnutrición, será necesario estimular la cicatrización para disminuir la morbilidad de las heridas y acelerar la reparación del defecto. Las células mesoteliales además de los factores de crecimiento, cuentan con la enzima "activador de plasminógeno" (AP) cuya actividad previene la formación de adherencias. Sin embargo, la lesión tisular también genera la liberación de inhibidor 1 e inhibidor 2 del activador del plasminógeno (IAP1, IAP2), a partir de las células inflamatorias, mesoteliales y endoteliales con la posterior pérdida de la actividad de AP, y la estimulación de la regeneración peritoneal. Se ha logrado precisar que estos eventos suceden al cabo de 6 a 12 horas^{17,18}. Las Células mesoteliales son responsables de generar el proceso más rápido de cicatrización y regeneración tisular peritoneal en el humano, en forma de islas, de ahí la génesis de las adherencias, este proceso activa la secuencia de inflamación, depósito de fibrina junto a un exudado inflamatorio y, posteriormente, una organización de la fibrina con invasión de fibroblastos que conduce a la creación de colágeno, seguida por su

maduración que genera adherencias fibrosas maduras¹. Son productoras de varias decenas de factores cicatrizantes desde el factor de crecimiento de keratinocitos hasta el factor estimulante derivado del endotelio. Las células mesoteliales tienen la capacidad de diferenciarse en varias líneas celulares de acuerdo a las necesidades del medio, a esta característica se le conoce como **plasticidad**.²¹ Las células mesoteliales producen una cantidad extensa de sustancias pro cicatrizantes como fosfolípidos, fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina, esfingomielina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, lisofosfatidiletanolamina, encargadas de formar la capa protectora peritoneal regenerativa.^{1,2,3,21} Producen además citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), factor de crecimiento transformador beta (TGF-B), factor de crecimiento plaquetario (PGF), factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento epitelial (EGF), endotelina 1, factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), entre otros.^{21,1,2}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De forma notable, ***no existen estudios experimentales previos en la literatura mundial, ni la hipótesis teórica de el uso de células mesoteliales peritoneales autólogas implantadas en heridas cutáneas de espesor total para estudiar las modificaciones morfológicas, cronológicas e histopatológicas, buscando la aceleración y/o mejora de la cicatrización cutánea***, lo que lo convierte en un excelente terreno de investigación en el campo de la ingeniería tisular siendo esta la *principal razón de esta investigación*.

Actualmente existen en el medio, varios tipos de materiales tanto biológicos como artificiales, para ser usados como injertos en quemados o como estimulantes del proceso de cicatrización, en pacientes con pérdida extensa de piel o en trastornos de cicatrización, cualquiera que haya sido la causa etiológica. La respuesta y la regeneración tisular en estos pacientes son tan variables como variables son los resultados y diferentes formas de tratamiento. La carencia de equipo y presupuesto en instituciones medicas, así como la falta de recursos hospitalarios sobre todo en países de tercer mundo, obligan a la ingeniería tisular actual, a la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas de menor costo y mayor disponibilidad para mejorar y hacer cada vez más factibles y aplicables las opciones de manejo en pacientes con enfermedades que

afectan la reparación cutánea. La cicatrización de tejidos así como la regeneración tisular pueden ser estimuladas con el uso de tejidos autólogos, lo que disminuye las reacciones inmunológicas, disminuye la posibilidad de rechazo, facilita la obtención de los mismos y disminuye los costos, por lo que el uso de células se ha convertido en la base de la investigación en materia de trasplantes³. Algunos factores de crecimiento han sido usados en estudios para acelerar la cicatrización, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento similar a la insulina, factor de crecimiento de queratinocitos y el factor de crecimiento derivado del endotelio. El único que ha sido aprobado para el uso en humanos es el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el resto siguen bajo investigación sin hallazgos favorables notables¹⁹. Se han utilizado células madre obtenidas de hueso en heridas para estimular la cicatrización, sus resultados han mostrado aumento de la vascularización y cicatrización variable, pero la mayoría de los estudios indican la necesidad de más experimentación en este terreno¹⁵. Existen estudios con células mesoteliales en otros tejidos como arterias y miocardio que demostraron inducir neovascularización en células miocárdicas infartadas.¹³ En otros se ha observado regeneración nerviosa en ratas implantadas con células peritoneales.²¹ Las células mesoteliales formadoras del tejido peritoneal, y su excelente capacidad de regeneración han sido observadas, estudiadas y se han tratado de inhibir durante años en cirugía abdominal por ser responsables de la génesis de las adherencias tan temidas en cirugía abdominal, y ahora son usadas y estimuladas en el campo de investigación en ingeniería tisular, aprovechando sus propiedades físico-químicas para producir cicatrización de heridas cutáneas. Por ello se realizó esta investigación con fines terapéuticos especialmente en pacientes con pérdida de tejido cutáneo.

JUSTIFICACION

Los quemados, diabéticos y otros pacientes crónico degenerativos, debido su gran necesidad metabólica y la falta de interacción armoniosa entre los factores de la cicatrización, de acuerdo a la magnitud de la lesión, e incapacidad para regenerar piel, se convierten en un campo de investigación extenso para la búsqueda de nuevos regeneradores tisulares o sustitutos funcionales cutáneos.

Es imperativa la búsqueda de sustancias o tejidos, que funcionen como regeneradores, aceleradores o modificadores tisulares cutáneos del proceso de cicatrización, especialmente en el campo de los pacientes con déficit o retraso del mismo. Por lo anterior, el siguiente trabajo tiene como objetivo demostrar las modificaciones histológicas, cronológicas y funcionales de la cicatrización modificada por tejido peritoneal y sus células mesoteliales.

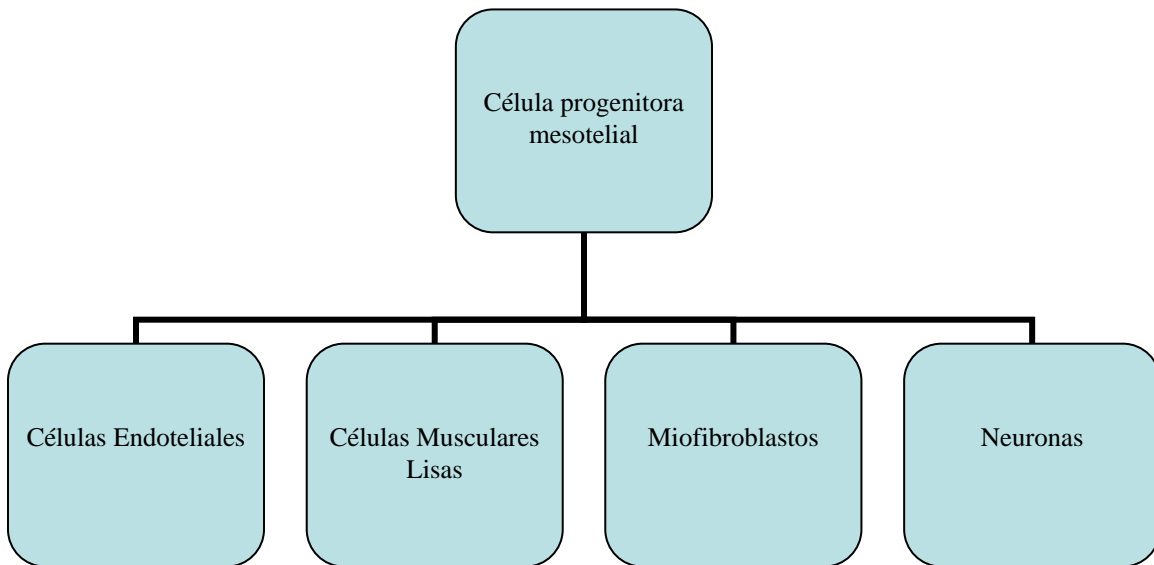


Diagrama 1.- Algunas capacidades demostradas de diferenciación de las células mesoteliales (Plasticidad).

OBJETIVOS GENERALES

Observar si el autotrasplante de células mesoteliales peritoneales autólogas puede acelerar y/o mejorar la calidad de cicatrización en heridas cutáneas de espesor total en ratas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1.- Determinar si el autotrasplante de células mesoteliales puede modificar la concentración de **colágeno** en la cicatrización de heridas cutáneas de espesor total en ratas.
- 2.- Determinar si el autotrasplante de células mesoteliales puede modificar la presencia de **macrófagos** en la cicatrización de heridas cutáneas de espesor total en ratas.
- 3.- Determinar si el autotrasplante de células mesoteliales puede modificar la presencia de **células inflamatorias** en la cicatrización de heridas cutáneas de espesor total en ratas.
- 4.- Determinar si el autotrasplante de células mesoteliales puede modificar la presencia de **vasos sanguíneos** en la cicatrización de heridas cutáneas de espesor total en ratas.

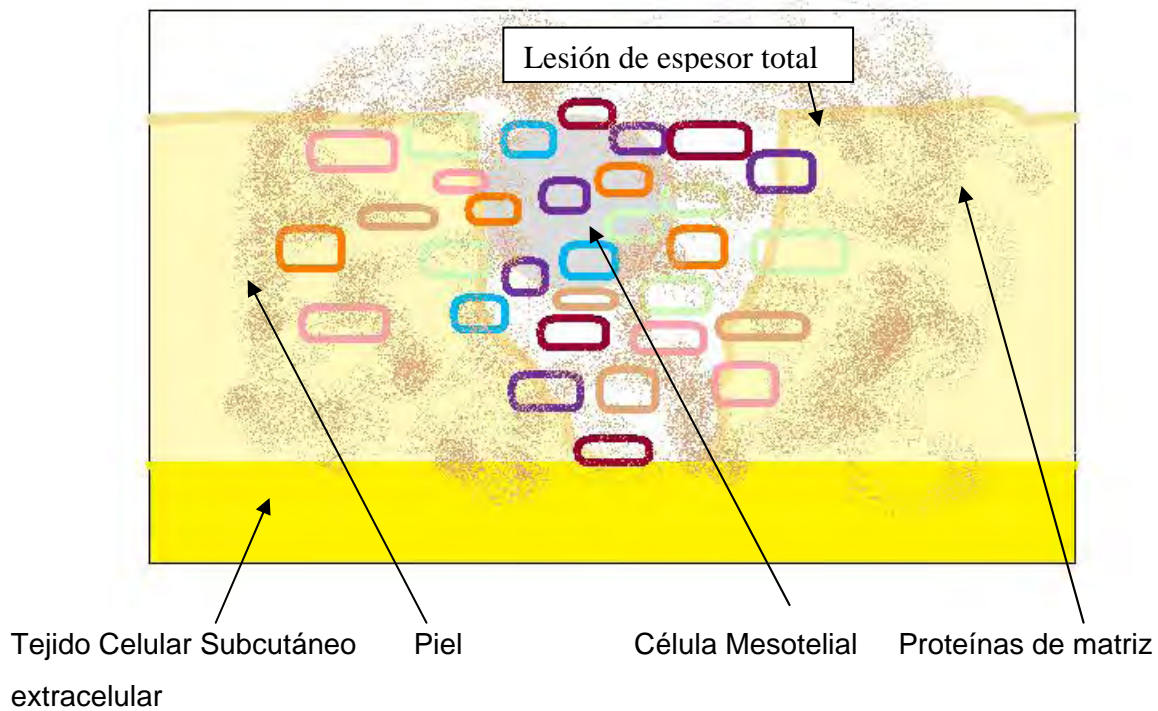
5.- Determinar si el autotrasplante de células mesoteliales puede modificar la presencia de **fibroblastos** en la cicatrización de heridas cutáneas de espesor total en ratas.

6.- Determinar si el autotrasplante de células mesoteliales puede modificar el grado de **retracción** en la cicatriz de heridas cutáneas de espesor total en ratas.

HIPÓTESIS

H0 El uso de células peritoneales como autoinjerto en lesiones de piel de espesor total en ratas, no modifica el proceso de cicatrización.

H1 El uso de células peritoneales como autoinjerto en lesiones cutáneas de espesor total en ratas, acelera y mejora el proceso de cicatrización.



Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) Factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF)
Factor de crecimiento transformador beta (TGF-β) Factor de crecimiento plaquetario (PGF)
Factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF) Factor de crecimiento epitelial (EGF)
Factor de crecimiento de queratinocitos (KGF).

Fig. 1. Representa la producción celular de factores mesoteliales en la zona del injerto.

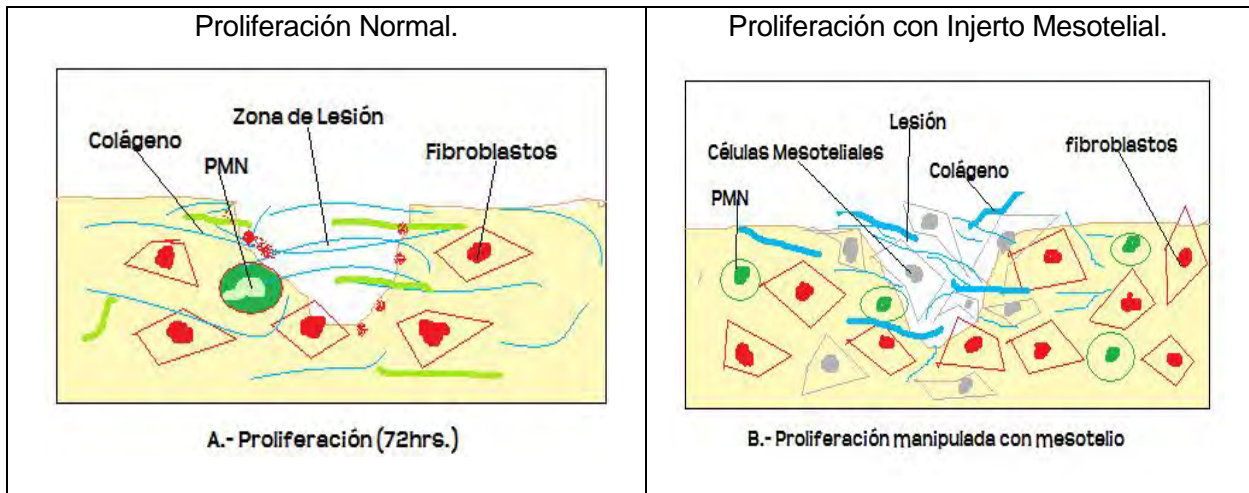


Fig. 2.- A, representa la cicatrización normal en fase de proliferación a las 72 hrs con presencia de fibroblastos, colágeno y polimorfonucleares. B, se representa mayor celularidad, mayor desarrollo de proteínas de matriz extracelular como colágeno y la facilidad de diferenciación de las células mesoteliales a fibroblastos (plasticidad).

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio y selección de la muestra

Estudio experimental, analítico, longitudinal prospectivo y comparativo, los animales fueron donados por el Bioterio Central de la Fac. de Medicina, UNAM y la fase experimental y el alojamiento de las ratas se realizó en el Departamento de Cirugía Experimental del Centro Médico ABC Observatorio, México, D.F. Fueron empleadas 15 ratas cepa Wistar, hembras, de 250 a 300 g. de peso, las cuales tuvieron agua y alimento ad libitum expuestos a ciclos naturales de luz y oscuridad y se mantuvieron a temperatura ambiente.

Criterios de selección

a) criterios de inclusión

1. Ratas raza Wistar
2. genero hembras
3. Peso de 250 a 300 gr
4. Clínicamente sanas.

b) criterios de exclusión

- 1.- Se excluyeron las ratas que fallecieron durante las primeras 24 hrs del postoperatorio, ya que esta complicación se relacionó directamente con el método anestésico y no con la técnica quirúrgica.
- 2.- Ratas macho.

METODOLOGIA

Se planeó y perfeccionó la técnica quirúrgica en forma teórica como está descrito más adelante y se implementó en las ratas, manteniéndolas siempre con mínimo dolor y molestia. El procedimiento fue el siguiente:

Técnica Quirúrgica

Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico intraperitoneal a una dosis de 1 ml/ 2.5 kg de peso, se les realizó tricotomía del abdomen y de la región dorsal en la zona de la cruz, asepsia y antisepsia de la región por operar, posteriormente se realizó marcaje milimétrico con tinta indeleble, se extirpó piel quirúrgicamente en espesor total, en un diámetro de 3 mm, con una incisión circular, dejando la herida abierta, en ambos grupos.

A las ratas del grupo I únicamente se retiró piel de región dorsal (área del círculo) de espesor total y a los 8 días del postoperatorio se tomo biopsia del área operada para ser enviada a estudios de histopatología

Grupo II. Se siguió el procedimiento quirúrgico antes descrito y posterior a este se realiza incisión en abdomen latero medial, de 15 mm longitud por donde se tomo una muestra de aproximadamente 2 mm de membrana peritoneal la cual fue implantada inmediatamente en la región dorsal sin piel, dicho implante fue fijado con 3 puntos simples utilizando polipropileno 7-0 y la herida quirúrgica fue cerrada por planos con polipropileno 6-0.

Ocho días después se tomó biopsia de la región injertada para ser enviada a estudios de histopatología.

Cuidados Postoperatorios

Ambos grupos se manejaron con ketorolaco a dosis estándar de 0.25 mg/kg única dosis en el postoperatorio inmediato.

Ambos grupos fueron observados durante 8 días, se llevó a cabo un seguimiento fotográfico para evidenciar los cambios macroscópicos y cronológicos.

Al octavo día se sacrificaron los animales y se tomaron biopsias de las lesiones en fase de cicatrización. Las biopsias fueron enviadas para estudios de histopatología, los cuales fueron etiquetadas por un patólogo y analizadas por otro en forma ciega, reportando lo siguiente:

1)

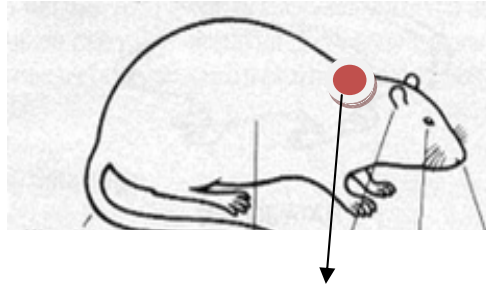


Fig. 3 Zona de escisión quirúrgica cutánea dorsal en controles (3 mm).

2)

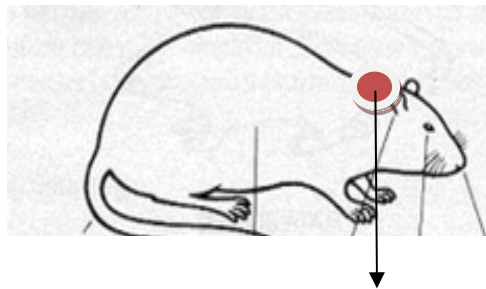


Fig.4 Zona de escisión quirúrgica cutánea dorsal en experimental

3)

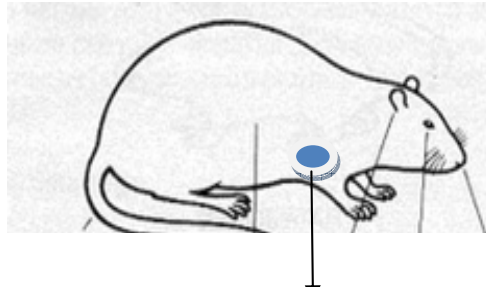


Fig. 5 Zona de incisión abdominal y toma de injerto de tejido peritoneal autólogo (2 mm). En experimental

4)

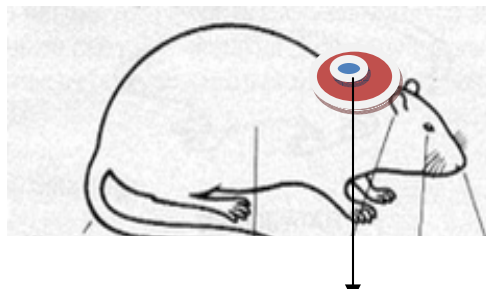


Fig. 6. Colocación y fijación del injerto peritoneal en herida dorsal en experimental.

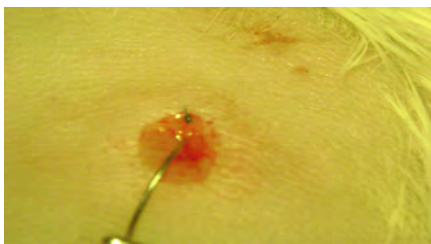


Fig. 7. Visión microscópica de la fijación del injerto peritoneal con puntos simples de nylon 7-0.

VARIABLES

NOMBRE DE LA VARIABLE	UNIDAD DE MEDICION	TIPO DE VARIABLE
COLÁGENA	0, +, ++, +++, +++++	Cualitativa ordinal
FIBROBLASTOS	0, +, ++, +++, +++++	Cualitativa ordinal
VASOS	0-5, 6-10, 11-15, 16-20, mas 20	Cuantitativa intervalo
MACRÓFAGOS	0, +, ++, +++, +++++	Cualitativa ordinal
CELS. INFLAMATORIAS	0, +, ++, +++, +++++	Cualitativa ordinal
RETRACCIÓN	0, +, ++, +++, +++++, ++++++	Cualitativa ordinal

MANEJO DE DATOS

Los datos fueron capturados en una base de datos del programa Microsoft Excel versión 2007, creada para el presente protocolo. Se desarrollo una escala de valoración numérica y visual, para puntualizar los grados de diferenciación con los resultados de acuerdo a los hallazgos de las biopsias, donde se asignó un valor a cada resultado , donde, (0) = 1 = nulo, (+) = mínimo = 2, (++) = leve = 3, (+++) = moderado = 4, (+++++) = severo = 5, y (+++++) = abultado = 6. Para el parámetro de presencia de vasos se desarrollo una segunda escala numérica y visual, de 0 a 5 = mínimo = 1, de 5 a 10 = leve = 2, 10 a 15 = moderado = 3, 15 a 20 = severo= 4 y mayor a 20 = Congestión = 5.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO



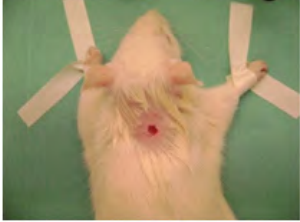


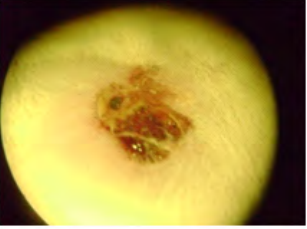




Para el análisis de datos se utilizó Statistical Package of Social Sciences (SPSS) 17.0. Se realizó estadística descriptiva por medio de medidas de frecuencia, de tendencia central y de dispersión. Se realizó estadística univariada para comparar ambos grupos, dado que son grupos independientes, se utilizó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

RESULTADOS

Inicialmente ambos grupos fueron seguidos mediante observación fotográfica con dos fases, la primera el día de la toma de los injertos y trasplante, y la segunda en el día 8 de cicatrización. En las dos primeras tablas de resultados se agrupan las fotografías en grupo experimental y controles donde podemos notar las diferencias entre ambos grupos como a continuación se muestra:







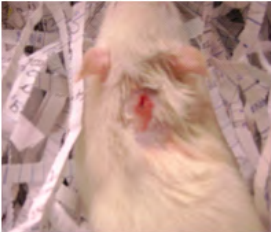
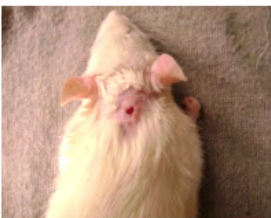
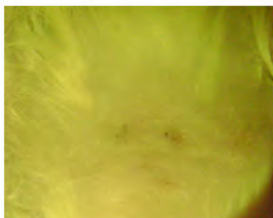
Tabla 1

Grupo I Control

Especimen	Día 1	Día 8
Control 1		
Control 2		
Control 3		
Control 4		
Control 5		

En la tabla 1, fotografías microscópicas de los individuos del grupo I control, donde podemos apreciar en el día 8 mayor presencia de hiperemia, inflamación y mayor retracción, lo que corresponde a una fase proliferativa de cicatrización es decir una fase más temprana que en el grupo de casos además de menor calidad de cicatrización.

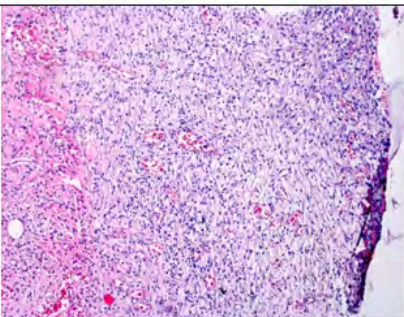
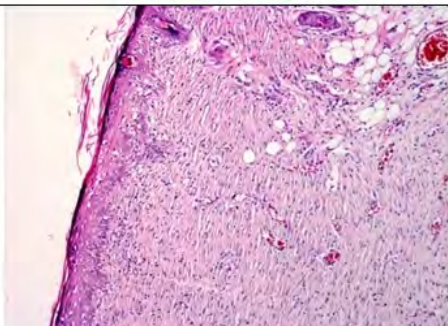
Tabla 2
Grupo II Experimental

Especimen	Día 1	Día 8
Exp. A		
Exp. 1		
Exp. 2		
Exp. 3		
Exp. 4		

Exp. 5		
Exp. 6		
Exp.7		
Exp. 8		
Exp. 9		

En la tabla 2 las fotografías microscópicas de los especímenes del grupo II experimental donde podemos apreciar que en el día 8, la cicatrización se encuentra con escasa inflamación sin retracción, además de presentar ligero aumento de la coloración y en aparente fase de remodelación.

Tabla 3.- Comparación Histológica

I Control (Co)	II Experimental (Ex)
	
Imagen A	Imagen B

La tabla 3 muestra en la imagen A cicatrización incompleta, vasos sanguíneos, presencia de células inflamatorias, y colágeno lo que es compatible con una fase proliferativa de cicatrización. La Imagen B muestra cicatrización completa, con menor número de células inflamatorias y vasos sanguíneos, así como mayor presencia de colágeno, lo que es compatible con una fase más adelantada o de remodelación de la cicatrización.

La tabla 3 muestra en la imagen A cicatrización incompleta, vasos sanguíneos, presencia de células inflamatorias, y colágeno lo que es compatible con una fase proliferativa de cicatrización. La Imagen B muestra cicatrización completa, con menor número de células inflamatorias y vasos sanguíneos, así como mayor presencia de colágeno, lo que es compatible con una fase más adelantada o de remodelación de la cicatrización.

En los 2 grupos control y experimental, fueron analizadas 5 variables, colágeno, fibroblastos, número de vasos, macrófagos, células inflamatorias y grado de retracción, para de esta forma valorar integralmente el tipo y características de la cicatrización. En la comparación de medianas, se encontró mayor presencia de colágeno en los experimentales (Ex) que en los controles (Co) de 1 contra 2.5. Para los Fibroblastos fue mayor el número encontrado en los (Co) que en los (Ex), 3 contra 2. Los macrófagos fueron encontrados en número de 1 en el grupo (Co), mientras que no fueron observados en ningún (Ex). Las células inflamatorias fueron observadas en el grupo (Co) con mediana de 1 mientras que no fueron observadas en ningún (Ex). En cuanto a la retracción se encontró mucho mayor en el grupo de (Co) con 3 que en el (Ex) con 1. Estos resultados muestran que los grupos control (Co) presentaron mayor

inflamación, fibrosis y retracción, además de una fase mas temprana de cicatrización que los experimental (Ex). Para el grupo (Ex) se encontró mayor colágeno y una fase más avanzada de cicatrización además de menor inflamación y fibrosis.

Tabla 4.- Estadística descriptiva de variables cualitativas.

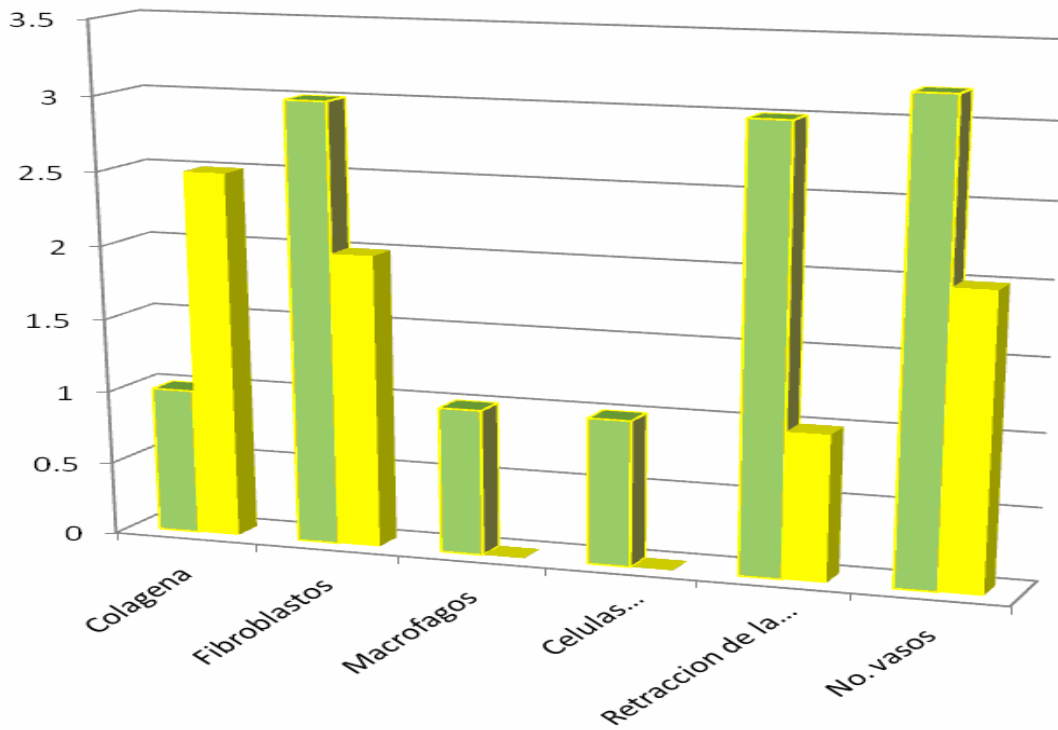
Grupo		Colágeno	Fibroblastos	Macrófagos	Células Inflamatorias	Retracción	
Control (Co) n=5	Mediana	1	3	1	1	3	
	Percentiles	25	0.5	2	0.5	0.5	2.5
		50	1	3	1	1	3
		75	2	3	1.5	1.5	3
Experimental (Ex) n=10	Mediana	2.5	2	0	0	1	
	Percentiles	25	1.75	1	0	0	1
		50	2.5	2	0	0	1
		75	3	3	0	0	2

En la tabla 5 o variable de vasos sanguíneos, se encontró mayor presencia en el grupo (Co) hasta en un 60% de los especímenes que en el grupo (Ex) que fue de 40%. Lo que indica mayor vascularidad en los controles por tratarse de una fase más temprana de cicatrización. Los experimentales presentan menor vascularidad por ser una fase mas avanzada de la cicatrización.

Tabla 5.- Estadística descriptiva del número de vasos.

Grupo	Frecuencia #	Porcentaje %	Porcentaje Acumulado
Control (Co)			
6 – 10	2	40	40
16 – 21	3	60	100
Total	5	100	
Exp. (Ex)			
0-5	4	40	40
6 – 10	3	30	70
11 – 15	2	20	90
16 – 21	1	10	100
Total	10	100	

Gráfico 1.



Experimental EX
Control Co

El gráfico 1, condensa y compara las medianas de las variables por grupos, donde se observa la mayor presencia de colágeno, la ausencia de células inflamatorias y macrófagos en los experimental (EX), así como la presencia mayor de retracción, vasos y fibroblastos en los controles (Co). Lo que indica una mejor y más avanzada fase de cicatrización en el grupo de experimentales (EX).

Tabla 6.

	Comparación de Ambos Grupos.		P
	Experimental n = 10	Controles n = 5	
Colágeno	2.5	1	0.042*
Fibroblastos	2	3	0.136
Macrófagos	0	1	0.002**
Células inflamatorias	0	1	0.002**
Retracción de la cicatriz	1	3	0.003**
No. de Vasos	2	3.2	0.003**
<p>*p < 0.05 **p < 0.01 a = T –Student b = U Mann –Witney</p>			

La tabla 6 muestra la significancia de en la variables por grupo, donde podemos observar que las variables de macrófagos, células inflamatorias, número de vasos y retracción de la cicatriz son estadísticamente significativas con una $p < 0.01$. La variable de colágeno fue significativa con una $p < 0.05$. La variable de fibroblastos no resultó estadísticamente significativa con una p de 0.136.

Un individuo del grupo experimental, presentó dehiscencia de la herida abdominal en el día 8 de postoperado, lo que se reportó como única morbilidad en el estudio, y permitió la toma de la biopsia dorsal antes de ser sacrificado, de acuerdo a los resultados de los demás individuos esta complicación no representó ningún riesgo para la cicatrización en la región dorsal.

DISCUSIÓN

En este modelo, aunque se trabajo con un número muy pequeño de animales los resultados observados con el uso de implantes mesoteliales son muy alentadores ya que se vio que favorecen la velocidad de cicatrización en heridas cutáneas de espesor total, mejoran la calidad de la misma y aumentan la síntesis de colágeno a más del 100%, disminuye significativamente la inflamación y la retracción de la herida mejorando la percepción estética, con respecto de la cicatrización normal.

En los animales a los cuales se les implantó peritoneo se vio que al 8° día presentaron cicatrización con características compatibles a la fase de remodelación a diferencia de las ratas que no fueron implantadas en las que al día 8 las características de cicatrización corresponden a la fase de proliferación lo que muestra aceleración en dicho proceso gracias a la acción de las células mesoteliales. Elmadbouh y cols demostraron el aumento de angiogénesis y mejoría de la función cardiaca en células miocárdicas infartadas trasplantadas con células mesoteliales¹³. De acuerdo a lo observado en el presente estudio se puede pensar que las células mesoteliales son estimulantes de la cicatrización cutánea, debido a sus características histológicas, quimio tácticas y de plasticidad y que pueden actuar como mediadores de la inflamación y aceleradores en el proceso de cicatrización, se observó también que al estimular la síntesis de colágeno cutánea, mejora la resistencia y elasticidad de la cicatriz haciéndola estéticamente mejor. Al acelerar el proceso de inflamación el tejido lesionado se encuentra menos tiempo expuesto a los agentes lesivos del medio y esto probablemente contribuya e mejorar el estado estético.

En el análisis estadístico que fue realizado por dos especialistas de diferentes centros hospitalarios, se puede puntualizar que 5 de de 6 variables resultaron estadísticamente significativas. En un futuro cercano la terapia celular puede generar ahorro importante en los sistemas de salud a nivel mundial y generar mejores perspectivas y resultados en el tratamiento de pacientes con déficit de cicatrización. Existen laboratorios que desarrollan cultivos de células mesoteliales y que las comercializan para múltiples usos en medicina, el costo de dichos cultivos oscila alrededor de 90\$ dólares, lo cual lo hace accesible para muchos pacientes y sistemas de salud subdesarrollados, por otro lado el tratamiento de heridas con injertos cutáneos, requiere de varios especialistas, tiempo de quirófano y

material lo que eleva los costos, y los resultados estéticos aun no son tan satisfactorios, es aquí donde el uso de células mesoteliales puede ser una opción para mejorar el manejo en dichos pacientes y disminuir el costo para los sistemas de salud²⁵. Se deberán realizar más estudios experimentales sobre todo con un seguimiento más largo para ver los resultados de la cicatriz en periodos más tardíos. Es prioritario el apoyo a la nueva generación de investigadores porque solo así estará garantizado el desarrollo de nuevas y mejores terapias.

CONCLUSIONES

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

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- G S DiZerega, Biochemical events in peritoneal tissue repair The European journal of surgery. Supplement. Acta chirurgica. 1997; (577):10-6.
- 2.- Mutsaers SE. Mesothelial cells their structure, function and role in serosal repair. Respirology. 2002 Sep;7(3):171-91.
- 3.- Herrick SE, Mutsaers SE. The potential of mesothelial cells in tissue engineering and regenerative medicine applications. Int J Artif Organs. 2007 Jun;30(6):527-40.
- 4.- Joyce C.Y. Chan, Danielle A. Accelerated Skin Wound Healing in Plasminogen Activator Inhibitor-1-Deficient Mice .Am J Pathol. 2001 November; 159(5): 1681–1688.

- 5.- Li F, Goncalves J, Faughnan K. Targeted inhibition of wound-induced PAI-1 expression alters migration and differentiation in human epidermal keratinocytes. *Exp Cell Res* 2000, 258:245
- 6.- Romer J, Bugge TH. Impaired wound healing in mice with a disrupted plasminogen gene. *Nat Med* 1996, 2:287-2
- 7.- Bugge TH, Kombrinck KW. Loss of fibrinogen rescues mice from pleiotropic effects of plasminogen deficiency. *Cell* 1996, 87:709-719
- 8.- Carmeliet P, Moons L. Inhibitory role of plasminogen activator inhibitor-1 in arterial wound healing and neointima formation: a gene targeting and gene transfer study in mice. *Circulation* 1997, 96:3180-3191
- 9.- Eitzman DT, Westrick RJ. Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency protects against atherosclerosis progression in the mouse carotid artery. *Blood* 2000, 96:4212-421
- 10.- Ploplis VA, Cornelissen I. Remodeling of vessel wall after copper-induced injury is highly attenuated in mice with a total deficiency of plasminogen activator inhibitor-1. *Am J Pathol* 2001, 158:107-117
- 11.- Carmeliet P, Kieckens L. Plasminogen activator inhibitor-1 gene deficient mice. I: generation by homologous recombination. *J Clin Invest* 1993, 92:2746-275.
- 12.- Hassan Elokda, MagidAbou-Gharbia. Tiplaxtinin, a Novel, Orally Efficacious Inhibitor of Plasminogen Activator Inhibitor-1: Design, Synthesis, and Preclinical J. Med. Chem., 2004, 47 (14), pp 3491–3494.
- 13.- Ibrahim Elmadbouh, Ying Chen. Mesothelial cell transplantation in the infarct scar induces neovascularization and improves heart function. *Cardiovascular Research* 2005 68(2):307-317; doi:10.1016/j.cardiores.2005.05.022 .
- 14.- A. Charruyer, R. Ghadially. Stem Cells and Tissue-Engineered Skin. *Skin Pharmacol Physiol* 2009;22:55-62 (DOI: 10.1159/000178864)

- 15.- Guo S, Dipietro LA. Factors Affecting Wound Healing. J Dent Res. 2010 Feb 5. [Epub ahead ofprint.
- 16.- Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front Biosci. 2004 Jan 1;9:283-9.
- 17.- Whawell SA, Wang Y. Localization of plasminogen activator inhibitor-1 production in inflamed appendix by in situ mRNA hybridization. J Pathol 1993; 169: 67-71
- 18.- Scott-Coombes DM, Whawell SA. The human intraperitonealfibrinolytic response to elective surgery. Br J Surg, 1994; 81: 1472-4.
- 19.- Grazul-Bilska AT, Johnson ML.Wound healing: the role of growth factors. Drugs Today (Barc). 2003 Oct;39(10):787-800.
- 20.- Di Paolo N, Sacchi G.State of the art on autologous mesothelial transplant in animals and humans.Int J Artif Organs. 2007 Jun;30(6):456-76.
- 21.- Witkowicz J. Mesothelial cell transplantation. Pol Arch Med Wewn. 2008 May;118(5):307-13.
- 22.- Yung S, Li FK, Chan TM.Peritoneal mesothelial cell culture and biology. Perit Dial Int. 2006 Mar-Apr;26(2):162-73.
- 23.- M. Strecker-McGraw.Soft Tissue Wounds and Principles of Healing
Emergency Medicine Clinics of North America, Volume 25, Issue 1, Pages 1-22
- 24.- Jisun Cha, MDc, Vincent Falanga, MD. Stem cells in cutaneous wound healing Br.
Clinics in Dermatology (2007) 25, 73–78.
- 25.- <http://www.zen-bio.com/products/cells/mesothelial.php>