



Facultad de Medicina



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
PETRÓLEOS MEXICANOS  
GERENCIA DE SERVICIOS MÉDICOS  
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD**

**NYLON VS ÁCIDO POLIGLICÓLICO SIMPLE VS ÁCIDO POLIGLICÓLICO POTENCIADO CON  
FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE CÉLULAS MADRE EN LA CICATRIZACIÓN DE  
HERIDAS CUTÁNEAS EN UN MODELO ANIMAL**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MÉDICO ESPECIALISTA EN CIRUGÍA PLÁSTICA Y RECONSTRUCTIVA**

PRESENTA:

**DR. EDUARDO JAVIER CARTAGENA SOTRES**

TUTOR DE TESIS:

**DR. RODRIGO DÁVILA DÍAZ**

ASESOR DE TESIS

**DR. CUAHUTÉMOC MÁRQUEZ ESPRIELLA**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



# CIRUGÍA PLÁSTICA

---

## PEMEX

Nylon Vs Ácido Poliglicólico Simple Vs Ácido Poliglicólico Potenciado con Factores de Crecimiento Derivados de Células Madre en la Cicatrización de Heridas Cutáneas en un Modelo Animal

Autor: Dr. Eduardo Javier Cartagena Sotres

Tutor: Dr. Rodrigo Dávila Díaz

Asesores: Dr. Cuahutémoc Márquez Espriella/Dra. Ma. Rene Rivera Salgado

Jefe de Servicio: Dr. Cuahutémoc Márquez Espriella

Hospital Central del Sur de Alta Especialidad, Petróleos Mexicanos

## **AGRADECIMIENTOS:**

A mi esposa por ser una compañera incondicional y un apoyo fundamental en mi vida, por darme el mejor regalo de vida y por crear conmigo una familia increíble. Gracias por regalarme muchos momentos de alegría y miles de recuerdos espectaculares, por ser mi mejor cómplice en este largo viaje.

A mi familia por regalarme principios e ideales de vida, por darme todo el amor y la comprensión en mis primeros años, que forjaron el carácter que me permite ser una persona íntegra actualmente.

A mis compañeros por compartir momentos de mucha diversión y aprendizaje durante estos 4 años. Gracias por regalarme experiencias de vida y herramientas para salir adelante en el ámbito profesional.

A mis profesores por un interminable proceso de aprendizaje que me llevará día con día a ser un profesionista exitoso y con principios bien definidos.

A mi tutor por ser un apoyo fundamental en el aspecto académico y personal, por la confianza y comprensión durante todo el proceso que ha desembocado en esta nueva etapa de vida. Gracias por ser un excelente ejemplo de vida.

Al equipo de histopatólogos, residentes, técnicos y adscritos del servicio de Anatomía Patológica, con especial atención a la Dra. Rivera; porque sin su apoyo colectivo, este esfuerzo no hubiera podido rendir tantos frutos.

A la Dra. Isaís y el equipo del Centro Médico ABC por su disposición permanente y valioso tiempo que dedicaron a la realización de este protocolo.

A mis amigos por ser ese respiro en momentos de frustración, por regalarme momentos de risas, diversión y pláticas de gran significado personal.



DRA. ANA ELENA LIMÓN ROJAS

Directora



DR. JESUS REYNA FIGUEROA

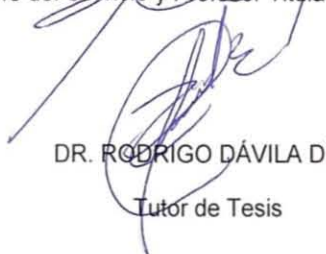
Jefe del departamento de Enseñanza e

Investigación



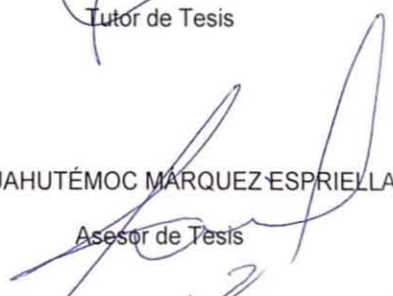
DR. CUAHUTÉMOC MÁRQUEZ ESPRIELLA

Jefe del Servicio y Profesor Titular del Curso



DR. RODRIGO DÁVILA DÍAZ

Tutor de Tesis



DR. CUAHUTÉMOC MÁRQUEZ ESPRIELLA

Asesor de Tesis



DRA. MA. IRENE RIVERA SALGADO

Asesora Especialista del Departamento de

Anatomía Patológica

**TÍTULO**

Nylon Vs Ácido Poliglicólico Simple Vs Ácido Poliglicólico Potenciado con Factores de Crecimiento Derivados de Células Madre en la Cicatrización de Heridas Cutáneas en un Modelo Animal

Autor: Dr. Eduardo Javier Cartagena Sotres

Asesores: Dr. Rodrigo Dávila Díaz/Dr. Cuahutémoc Márquez Espriella/Dra. Ma. Irene Rivera Salgado

Jefe de Servicio: Dr. Cuahutémoc Márquez Espriella

Hospital Central del Sur de Alta Especialidad, Petróleos Mexicanos

## **DEFINICIÓN DEL PROBLEMA**

El estudio actual pretende comparar los resultados en la cicatrización con sutura no absorbible (estándar de oro), sutura absorbible simple y sutura absorbible potenciada con factores de crecimiento derivados de células madre de origen mesenquimal en un modelo animal, basado en 3 parámetros:

- Angiogénesis (Capilares por campo)
- Infiltrado inflamatorio (Células inflamatorias por campo y estirpe)

De tal manera que, podamos realizar el análisis de los beneficios y posibles complicaciones del empleo de material biológico en conjunto con material de sutura absorbible y asimismo, proponer una nueva alternativa para el tratamiento de heridas.

## MARCO TEÓRICO

La cicatrización de las heridas es una cascada bien orquestada de sucesos donde el tema central es la restauración de la fisiología e histología de la piel, por lo que se traduce en el tema central de la cirugía plástica y reconstructiva.<sup>1,2</sup>

Es importante conocer los aspectos generales en cuanto a la piel y su cicatrización. La piel es el órgano más extenso de la anatomía humana y compone la primera barrera. Su intrincada histología, en conjunto con los diversos elementos vasculares, nerviosos y anexos le proveen de múltiples funciones:<sup>3</sup>

- Inmunológica
- Termorreguladora
- Sensorial
- Hidrofílica
- Sintetizadora de vitamina D

Histológicamente comprende 4 y 5 capas en la epidermis y 2 en la dermis que le permiten la diferenciación secuencial de múltiples linajes celulares, sin embargo, dicha diferenciación compromete la pérdida de capacidad de proliferación en las capas más superficiales, por lo que las capas profundas y los anexos son los nichos encargados de la regeneración y cicatrización tisular.

La cicatrización es un sistema dinámico de múltiples procesos, cuyo resultado y función es la restitución morfológica y funcional de los tejidos y cuya disfunción o fracaso desemboca en la cronicidad de las heridas. En términos generales, la cicatrización se puede dividir en 3 fases que se yuxtaponen y brindan una restitución total de los tejidos vulnerados. Estas son por orden cronológico: <sup>2</sup>

- Inflamación y Hemostasia: Inician desde el momento de la lesión, al verse expuesto el endotelio de los capilares aledaños al sitio afectado y comprende la agregación plaquetaria y formación del coágulo con la subsecuente liberación de factores quimiotácticos y citotácticos para una adecuada angiogénesis y restitución vascular. La fase inflamatoria implica el reclutamiento celular necesario para la restitución de las múltiples capas afectadas, así como la liberación de radicales libres y sustancias inhibitorias del crecimiento bacteriano.



- Proliferación: Inicia alrededor del día 1 y hasta el primer mes posterior a la lesión. Durante dicha fase se genera un incremento en la población de queratinocitos y en la diferenciación de miofibroblastos, encargados de la formación de colágena y aproximación de los bordes, respectivamente para generar tejido de granulación necesario para la adecuada reepitelización del sitio afectado.

- Maduración y Remodelación: Una vez generado el nuevo tejido, esta fase que va desde los 30 días hasta 18 meses después de la lesión inicial, se produce el recambio de colágena por un tipo más organizado de la misma y se reestablece la morfología similar a la del tejido nativo. Esta fase es primordial en cuanto a la fuerza de tensión de la cicatriz, ya que, a medida que el proceso haya sido oportuno y óptimo en todas sus fases, se ganará hasta 80% de la fuerza tensil original del tejido. Asimismo, en esta fase es que se producen las patologías inherentes a la cicatrización en el ser humano: La cicatriz hipertrófica y la cicatriz queloide.

Por otra parte, se han descrito múltiples factores han sido asociados a retraso en la cicatrización:<sup>2,3</sup>

- Insuficiencia vascular
- Diabetes
- Nefropatía
- Trauma
- Edad avanzada
- Hipoxia
- Isquemia
- Presencia de cuerpo extraño

La cronificación de las heridas es un tema sensible en el materia de salud pública, ya que influye de forma negativa en múltiples rubros cuantitativos como gastos y empleo de recursos humanos, así como cualitativos como la calidad de vida del paciente, deficiencia para desempeñar actividades cotidianas que condicionen a la dependencia del mismo hacia un cuidador y la presencia de dolor.<sup>1</sup>

Actualmente, se ha hecho énfasis en el cuidado y la terapéutica de las heridas en múltiples modalidades, basado en conocimiento previo y nuevo referente a las características morfofuncionales de los diversos linajes celulares. Se sabe, por ejemplo, que *in utero*, las heridas cutáneas cicatrizan de forma rápida y sin secuela de cicatriz, sin embargo, esta capacidad regenerativa del tejido se pierde durante el tercer trimestre del embarazo. Las explicaciones postuladas para dicho suceso son múltiples, basadas en modelos fetales, por lo que el empleo de células madre se postula como un nuevo capítulo en el desarrollo de tecnología para la curación de las heridas.<sup>1,2</sup>

A casi una década del empleo generalizado de biomateriales como son dermis celulares y acelulares obtenidas a partir de donantes cadavéricos y origen bovino, apósitos y bioandamios, se ha observado un importante incremento en el arsenal terapéutico para la cicatrización de heridas cutáneas.

El empleo de células madre y factores de crecimiento derivados de las mismas se ha implementado en últimas investigaciones, los sustratos para su obtención son diversos y continua el debate sobre la factibilidad de su cultivo y transporte, así como el aspecto ético; por consiguiente, son aspectos que han representado una limitante importante en la popularización y accesibilidad de esta tecnología.

Basados en ensayos clínicos previos, así como en la experiencia obtenida a partir del empleo de múltiples biomateriales comercializados actualmente, podemos inferir que el desarrollo de una siguiente generación de materiales optimizados con células madre puede proporcionar múltiples ventajas en el proceso de cicatrización. Por ejemplo, se sabe que las células madre son células indiferenciadas que pueden generar células indiferenciadas nuevas así como células idénticas al tejido en el que son incluidas. Estas células se encuentran generalmente en tejido embrionario, sin embargo, debido al percance ético que supone su sustracción, se ha dirigido la investigación hacia el empleo de células madre mesenquimales, las cuales son multipotenciales y pueden ser obtenidas en múltiples tejidos en el humano adulto. Por la heterogeneidad de su origen y cultivo,

en 2006, la Sociedad Internacional de Terapia Celular, propuso tres criterios básicos para su empleo: <sup>1</sup>

- Las células cultivadas deben adherirse *in vitro*
- Las células deben expresar las proteínas CD105, CD73 y CD90 y no deben expresar CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79α o CD 19 y HLA-DR
- Las células debe ser capaces de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos al ser cultivadas *in vitro*

La bibliografía actual ha corroborado múltiples beneficios en el empleo de células madre mesenquimales y sus derivados proteicos en conjunto con otros productos comerciales, pero debemos explorar nuevas interrogantes como el tipo de célula mesenquimal (mielocito, adipocito) óptimo para la cicatrización en cuanto a su función, antigenicidad y obtención, por otra parte existe la controversia sobre el transporte adecuado para su depósito intralesional, por lo que la realización de más estudios experimentales resulta la herramienta para resolver dichas preguntas.

## **JUSTIFICACIÓN**

Se estima que alrededor de 6.5 millones de personas en Estados Unidos presentan heridas crónicas actualmente, ocasionando gastos de hasta 50 mil millones de dólares al año.<sup>1</sup> Desafortunadamente, en nuestro país no con datos estadísticos para realizar un comparativo adecuado, sin embargo, sabemos que el cuidado de las heridas es un aspecto esencial en la atención de la salud y que requiere de abundantes recursos humanos y materiales.

En el caso específico de la piel, las heridas generan pérdida de sus múltiples funciones de barrera, permitiendo la pérdida de la homeostasis y dejando como resultado la probable vulneración del organismo por parte de patógenos ambientales, para lograr una adecuada cicatrización, dependemos de variables intrínsecas y extrínsecas, siendo fundamental, la participación de células madre como el sustrato intrínseco para la restitución funcional y morfológica del tejido cutáneo.

Por otra parte, sabemos que las fases de la cicatrización, a pesar de su naturaleza dinámica y su consecución de manera yuxtapuesta, los momentos primordiales de término en cuanto a las fases inflamatoria y proliferativa, se encuentran alrededor de la primera y tercera semana, por lo que sin las ventanas cruciales, al momento de la determinación de las múltiples variables tisulares como son angiogénesis, concentración de colágena e infiltrado inflamatorio.

Existen nichos de células madre en las capas profundas de la piel, así como en los diversos anexos, las cuales son un recurso fundamental para una adecuada cicatrización, homeostasia y regeneración. Por su origen y propiedades, las células mesenquimales componen un recurso emergente en el tratamiento de heridas.<sup>7</sup>

Por otra parte, en cuanto a los factores extrínsecos, uno de los primordiales es la aproximación de bordes de las heridas, para lo cual, los diversos materiales de sutura son insumos indispensables en el día a día quirúrgico, el empleo de sutura absorbible es un recurso ampliamente utilizado para evitar la presencia de cicatrices evidentes o deformidad. Lo anterior, ha condicionado el surgimiento de nuevos materiales y tecnologías para optimizar el proceso de cicatrización, como

son el empleo de factores recombinantes e incluso anticuerpos incluidos en el material de sutura como factores adyuvantes, con resultados que denotan distintas ventajas a nivel experimental.<sup>3</sup>

En cuanto al empleo de células mesenquimales y citosinas derivadas de las mismas, en combinación con material de sutura, existen estudios que han dejado constancia de la utilidad de dicha sinergia en el cierre de anastomosis colónica y tenorrafía en distintos modelos animales.<sup>3-15</sup> Aunado a los reportes de beneficios en cuanto a la señalización paracrina en el tejido inflamatorio heridas crónicas con empleo de células mesenquimales y proteínas obtenidas de las mismas, aplicadas de forma tópica<sup>7</sup>, se establece el supuesto de que la sinergia de ambos recursos representará un beneficio potencial en la cicatrización de todo tipo de heridas. El desarrollo de una sutura biotecnológica puede optimizar el proceso de cicatrización por medio de múltiples mecanismos:

- Incremento en la secreción de citocinas
- Fomento de la proliferación celular
- Promoción de sinergia mecánico-biológica

## **HIPÓTESIS**

*H0* En un modelo experimental, el empleo de suturas impregnadas en factores de crecimiento derivados de células madre optimiza la cicatrización de heridas

*H1* En un modelo experimental, el empleo de suturas impregnadas en factores de crecimiento derivados de células madre no mostrará cambios significativos en la cicatrización de heridas

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Comparar el efecto en la cicatrización empleando material no absorbible, absorbible simple y absorbible potenciado con factores de crecimiento derivados de células madre en un modelo animal.
  - Capilares por Campo
  - Presencia o ausencia de tejido inflamatorio
  - Tipo predominante de tejido inflamatorio

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluación en el modelo animal del efecto de la sutura; desarrollados en la resolución de heridas causadas por incisión quirúrgica.
- Evaluación de seguridad por registro de eventos adversos como dehiscencia de herida o necrosis

## **TIPO DE ESTUDIO**

Estudio cuasiexperimental en Ratas Wistar en el Departamento de Cirugía Experimental del Centro Médico ABC en conjunto con el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos



## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **UNIVERSO:**

Se utilizarán ratas del Departamento de Cirugía Experimental del Centro Médico ABC

Muestra: Se utilizarán 20 Ratas Wistar, aleatorizadas en 2 grupos.

### **CRITERIOS:**

- i. Inclusión: Ratas, clínicamente sanas, no utilizadas en algún otro proyecto de investigación, sin antecedentes de quemaduras.
- ii. Exclusión: Animales clínicamente enfermos, con antecedentes de lesiones o incluidas en otro proyecto de investigación.
- iii. Eliminación: Animales fallecidos durante el evento quirúrgico o el seguimiento.

### **SELECCIÓN DE LA MUESTRA:**

Se seleccionarán 20 Ratas cepa Wistar para experimentación del Departamento de Bioterio y Cirugía Experimental del Centro Médico ABC, con los criterios ya antes mencionados, las cuales se colocarán en jaulas individuales a temperatura ambiente, con adecuada alimentación. Todos los animales serán tratados de acuerdo a las normas para el uso de los animales de laboratorio de México y los protocolos de manejo del Servicio de Bioterio y Cirugía Experimental del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos y la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals de los Estados Unidos de América.

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

#### GRUPOS DE ESTUDIO:

Se formarán 2 grupos de 10 Ratas Wistar, con los criterios ya mencionados, seleccionadas aleatoriamente. Los sujetos de estudio son ratas Wistar proporcionados por el Departamento de Cirugía Experimental; clínicamente sanos (hembras o 15 de cada sexo) con pesos de 250 a 500 g. El consumo de agua será a libre acceso, potable y libre de patógenos

Se realizarán heridas cutáneas, las cuales serán suturadas de forma inmediata por medio de suturas de Nylon, Ácido Poliglicólico y Ácido Poliglicólico embebido en factores de crecimiento con células madre (AAPE®).

Se determinarán los parámetros histológicos del primer grupo de 10 ratas el día 7 postoperatorio y del segundo grupo el día 28, respectivamente. Al término de la toma de muestras, los individuos de cada grupo serán sacrificados por medio de sobredosis de medicamento anestésico.

## DISEÑO DE ESTUDIO

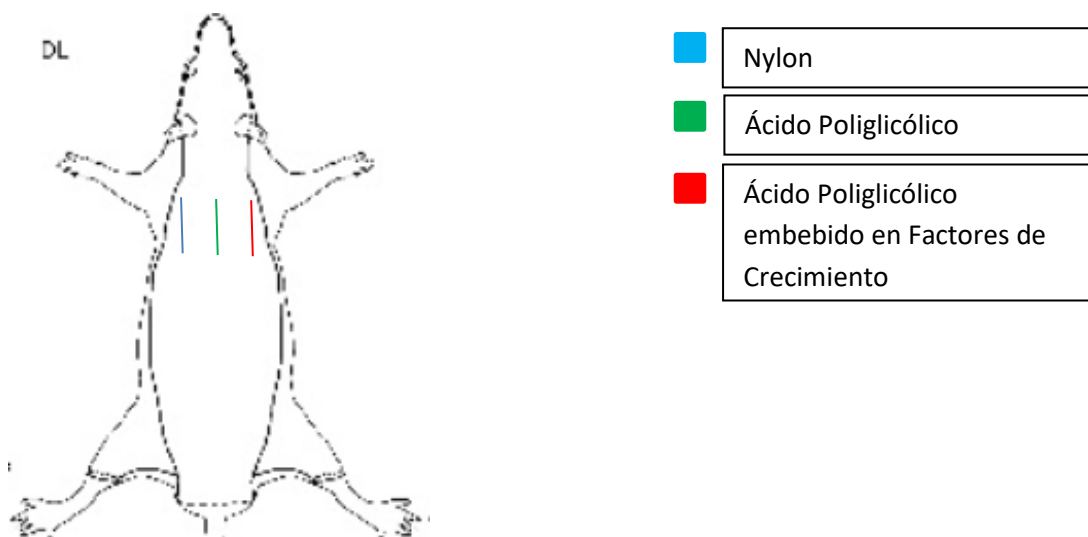
Es un estudio controlado, aleatorizado, comparativo, prospectivo y longitudinal en modelo cuasi experimental.

### PLAN ANESTÉSICO:

Posterior a inducción anestésica por medio del empleo de (éter inhalado, prácticamente no se debe de usar solo como inductor y no da analgesia posterior a la cirugía, se sugiere usar como anestésico xilacina-ketamina o xilacina/toletamina zolacepam),

### TECNICA QUIRURGICA:

Se realizará protocolo de antisepsia en los pacientes por medio de jabón de Clorhexidina, para posteriormente realizar tricotomía en región cefálica dorsal. Se realizarán 3 incisiones en sentido longitudinal de 1.5 cm cada una y con separación mínima de 2 cm entre cada una, mismas que serán suturadas por medio de 2 puntos simples de Polipropileno 3-0, 2 puntos invertidos intradérmicos de Ácido Poliglicólico 3-0 y 2 puntos invertidos intradérmicos de Ácido Poliglicólico embebido en Factores de Crecimiento derivados de Células Madre (AAPE®) proporcionados de forma gratuita por el laboratorio Prostemics®. Se muestra el esquema en la siguiente figura (Fig. 1):



**Fig. 1** – Cuadro esquemático de suturas empleadas en el cierre cutáneo

En el presente ensayo empleamos el extracto proteico AAPE® de laboratorios Prostemics®, el cual es purificado cuenta con más de 300 proteínas derivadas de células mesenquimales provenientes del tejido adiposo, principalmente, factores de crecimiento y citocinas. Existen 2 variedades de dicho producto, decidimos emplear el extracto para piel, mismo que fue diluido en 6 cc de solución salina al 0.9%, posteriormente, en cada vial se agregaron hasta 5 suturas de ácido por frasco y se dejaron para impregnar durante 30 minutos previos a su aplicación en la síntesis de la piel de los sujetos experimentales.

#### POSTOPERATORIO:

Se medicará posterior a la cirugía en alojamiento (individual o colectivo).

ANALGESICO INTRAPERITONEAL (KETOROLACO) inmediatamente al término del procedimiento

ANALGESICO ORAL (TRAMADOL, METAMIZOL) por 3 días posteriores al procedimiento en agua de bebida.

Se realizarán 2 aseos con antiséptico (hipoclorito de sodio al 55 PPM) durante los primeros 5 días posteriores al evento quirúrgico

#### TOMA DE MUESTRAS:

Se realizará la determinación histopatológica a los días 7 y 28 respectivamente, de los siguientes parámetros en comparación con una muestra de tejido previamente sano:

- Vasos Capilares por campo
- Presencia o ausencia de Tejido inflamatorio
- Tipo predominante de Tejido Inflamatorio

Finalmente, al término del plazo del segundo cultivo tisular de dichos parámetros, durante la última biopsia incisional de las múltiples heridas para su posterior envío al servicio de patología, se realizará la eutanasia de los animales

experimentales por medio de sobredosificación anestésica, logrando a su vez, una muerte humanitaria de los mismos.<sup>16</sup>

#### MÉTODO ESTADÍSTICO EMPLEADO:

- Kruskall Wallis con cálculo de Dunn para determinar diferencias significativas por grupo en rubros que así lo presenten.

## **RECURSOS Y LOGÍSTICA**

- Recursos Humanos
  - Residentes CPR
- Recursos Materiales
  - 20 ratas tipo Wistar
  - 30 suturas
    - 10 Nylon
    - 10 Ácido Poliglicólico
    - 10 Ácido Poliglicólico potenciado con Factores de Crecimiento Derivados de Células Madre (AAPE®)
- Recursos Financieros
  - Ninguno
- Convenios
  - Departamento de Cirugía Experimental del Centro Médico ABC
  - Laboratorio Prostemics ®
- Apoyo
  - Servicio de Anatomía Patológica (Dra. Irene Rivera)

## RESULTADOS

Se realizó el protocolo quirúrgico (Figs. 2 y 3) y se prepararon las porciones de piel para ser incluidas y posteriormente teñidas con Hematoxilina y Eosina (Fig. 4). Se realizó la visualización de las muestras por medio de microscopía óptica a 10, 20 y 40 aumentos y se reportan los distintos individuos en las siguientes tablas:

**Tabla 1:** Biopsias de piel tomadas al día 7

Sujeto	Tipo de Inflamación	Capilares por Campo	Solución de Continuidad
I-N1	Granulomatosa	7	Sí
I-N2	Granulomatosa	9	No
I-N3	Granulomatosa	4	No
I-N4	Granulomatosa	4	Sí
I-N5	Granulomatosa	5	No
I-N6	Granulomatosa	10	No
I-N7	Granulomatosa	13	No
I-N8	Granulomatosa	16	Sí
I-N9	Aguda y Granulomatosa	15	Sí
I-N10	Aguda y Granulomatosa	9	No
I-APG1	Granulomatosa	4	No
I-APG2	Aguda y Granulomatosa	5	Sí
I-APG3	Granulomatosa	16	No
I-APG4	Granulomatosa	15	No
I-APG5	Granulomatosa	13	No
I-APG6	Granulomatosa	18	No
I-APG7	Granulomatosa	17	No
I-APG8	Aguda y Granulomatosa	9	Sí
I-APG9	Granulomatosa	5	No
I-APG10	Aguda y Granulomatosa	17	Sí
I-PCM1	Granulomatosa	7	No
I-PCM2	Granulomatosa	4	No
I-PCM3	Granulomatosa	8	Sí
I-PCM4	Aguda y Granulomatosa	2	Sí
I-PCM5	Aguda y Granulomatosa	9	No
I-PCM6	Granulomatosa	5	No
I-PCM7	Granulomatosa	9	No
I-PCM8	Aguda y Granulomatosa	3	No
I-PCM9	Granulomatosa	5	Sí
I-PCM10	Granulomatosa	7	No

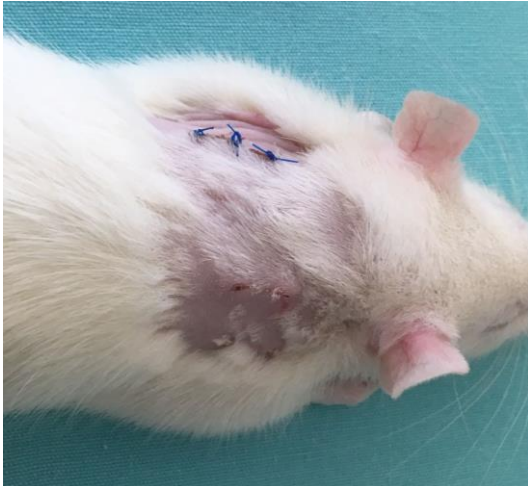
N: Nylon, APG: Ácido Poliglicólico, PCM: Potenciado con Factores Derivados de Células Madre

**Tabla 2:** Biopsia de piel tomada al día 28

Sujeto	Tipo de Inflamación	Capilares por Campo	Solución de Continuidad
II-N1	Mínima	3	No
II-N2	Mínima	6	No
II-N3	Mínima	9	No
II-N4	Mínima	1	No
II-N5	Mínima	3	No
II-N6	Granulomatosa	3	No
II-N7	Mínima	6	No
II-N8	Mínima	3	No
II-N9	Mínima	3	No
II-N10	Mínima	0	No
II-APG1	Granulomatosa	5	No
II-APG2	Granulomatosa	8	No
II-APG3	Mínima	1	No
II-APG4	Mínima	4	No
II-APG5	Mínima	6	No
II-APG6	Aguda y Granulomatosa	11	No
II-APG7	Mínima	1	No
II-APG8	Mínima	1	No
II-APG9	Mínima	3	No
II-APG10	Mínima	0	No
II-PCM1	Mínima	0	No
II-PCM2	Mínima	2	No
II-PCM3	Mínima	1	No
II-PCM4	Mínima	1	No
II-PCM5	Mínima	0	No
II-PCM6	Mínima	1	No
II-PCM7	Mínima	0	No
II-PCM8	Mínima	1	No
II-PCM9	Mínima	1	No
II-PCM10	Granulomatosa	1	No

N: Nylon, APG: Ácido Poliglicólico, PCM: Potenciado con Factores Derivados de Células Madre





**Fig.2** – Incisiones en piel dorsal tricotomizada, suturadas con acorde al protocolo



**Fig.3** – Toma de muestra para preparación de tejido y estudio microscópico posterior



**Fig. 4** - Preparación de tejido para inclusión

Como se observan en ambas tablas los resultados fueron relativamente variables en los rubros de Tipo de Inflamación y Solución de Continuidad tanto en el grupo del día 7 como en el día 28, por lo cual no existió una significancia estadística en dichos rubros (Tipo de inflamación día 7  $p=0.8481$  y día 28  $p=0.3614$ ; Solución de continuidad día 7  $p=0.8650$  y día 28 sin diferencia entre los grupos).

No obstante, en el rubro de Capilares por campo en el sitio de la cicatriz existieron diferencias estadísticamente significativas en los días 7 y 28 de postoperatorio con resultados de  $p=0.04027$  y  $p=0.01016$ ). Se realizaron pruebas ajustadas de Dunn para discernir la significancia existente entre los grupos, hallando lo siguiente:

**Tabla 3:** Cálculo de Dunn ajustado por el Método de Benjamini-Hochberg Día 7

	APG	N
N	0.3125	
PCM	0.03538	0.1971

N: Nylon, APG: Ácido Poliglicólico, PCM: Potenciado con Factores Derivados de Células Madre

**Tabla 4:** Cálculo de Dunn ajustado por el Método de Benjamini-Hochberg Día 28

	APG	N
N	0.8552	
PCM	0.01722	0.01722

N: Nylon, APG: Ácido Poliglicólico, PCM: Potenciado con Factores Derivados de Células Madre

Como podemos observar en el día 7, se encontraron diferencias significativas entre los grupos APG y el PCM, con una mayor modulación en cuanto a la angiogénesis por el grupo de Ácido Poliglicólico Potenciado con Factores de Crecimiento Derivados de Células Madre. De forma similar, en el día 28 se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos y entre los grupos N y PCM, es decir que, incluso en comparación con el grupo suturado con Nylon, la sutura potenciada mostró beneficio en cuanto a la vascularidad de la cicatriz (Figs. 3 y 4).

Por otra parte, encontramos poca incidencia de complicaciones, las cuales se encontraron predominantemente al día 7 con 30% de incidencia en cuanto a

dehiscencia de heridas. Esto puede ser debido a la inmadurez de la cicatriz y al retiro prematuro del material de sutura al momento de tomar las biopsias.

El grupo suturado con puntos simples intradérmicos de Ácido Poliglicólico Simple fue el que presentó mayor grado de fibrosis en el día 28, mientras que el suturado con el material embebido en AAPE® presentó datos de madurez cicatrizal, caracterizada por la presencia de menor cantidad de vasos de neoformación y el depósito de colágena en el trayecto de la misma. Existieron incluso, laminillas que muestran un patrón histológico muy similar a la piel previamente sana en este grupo.

Por parte del grupo suturado con sutura no absorbible, realmente la evolución fue muy consistente en los días 7 y 28, mostrando pocas diferencias en cuanto a la incidencia de complicaciones. Sin embargo, es importante comentar que en las muestras de estos grupos se encontró una incidencia de 20% de formación de infección al día 7 y menor cantidad de colágena depositada en la brecha cicatrizal en comparación con el grupo de sutura absorbible potenciada. Lo anterior se puede deber al hecho de exposición directa de los cabos de la sutura, existiendo mayor riesgo de tracción y lesión por parte del sujeto experimental. Sin embargo, no encontramos datos de infección con el empleo de dicha sutura al día 28.

## **DISCUSIÓN**

Las células madre o mesenquimales son un linaje celular relativamente inmaduro en términos de diferenciación y de la capacidad de renovarse. Son estas 2 características las que han motivado el auge actual en cuanto a protocolos experimentales en animales e incluso pacientes humanos para delimitar sus bondades y capacidades.

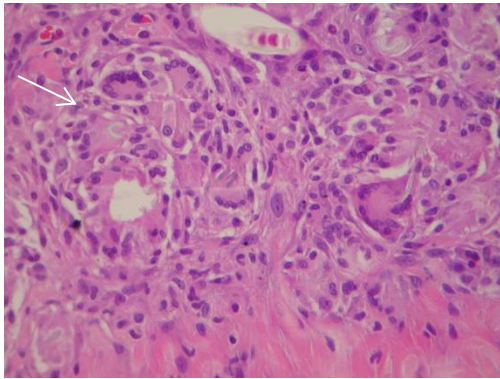
Las líneas de investigación alrededor de estas células han sido muy variadas dependiendo de la rama de la medicina que las emplea. En el caso de nuestra especialidad, como cirujanos plásticos nos dedicamos a los cuidados y cicatrización de heridas de diversa índole, así como al tema estético, por lo que existen reportes de beneficios con el uso de células mesenquimales y sustancias derivadas de las mismas en aplicaciones como son: efectos antioxidantes, antimelanogénicos, desvanecimiento de ríides, crecimiento e incremento de población capilar, cicatrización de heridas en diversos tejidos, entre otras.<sup>18-23</sup>

El concentrado proteico AAPE® cuenta con múltiples líneas de investigación, entre las que se encuentran: despigmentación, desvanecimiento de ríides, efectos antioxidantes, crecimiento y proliferación capilar, entre otras. Sin embargo, las últimas investigaciones se han enfocado a su función como coadyuvante en la cicatrización tisular.<sup>24</sup>

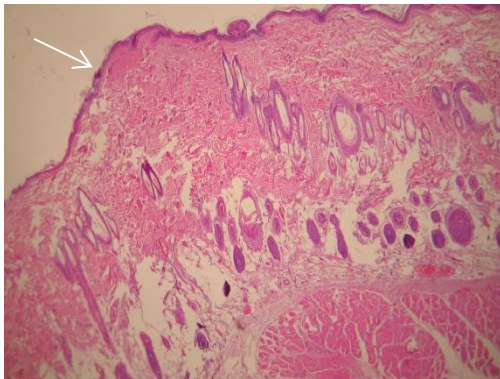
Por otra parte en la actualidad, el empleo de suturas absorbibles es un tema controversial en cuanto a su beneficio en el cierre de heridas crónicas. Es por ello, que la deseamos indagar en este estudio sobre la probable sinergia al potenciar este tipo de suturas con los beneficios inmunomoduladores y antioxidantes de este tipo de derivados proteicos de células mesenquimales.

En nuestro estudio, empleamos como indicadores a la presencia de tejido inflamatorio, así como el linaje predominante en cada muestra, lo anterior con el propósito de discernir si coincidían con la cascada inflamatoria y la secuencia de cicatrización como la conocemos actualmente. Como se comentó en el apartado de resultados, el principal infiltrado inflamatorio fue del tipo de macrófagos, encontrando incluso muestras con células gigantes multinucleadas (Fig. 5) en las

muestras del día 7, principalmente en el grupo de sutura potenciada con AAPE®, asimismo, se encontraron un número importante de capilares de neoformación en dichas muestras, en comparación principalmente con el grupo suturado con nylon. No obstante, dichas tendencias pueden denotar un acortamiento en el proceso cicatrizal, ya que en las biopsias del día 28 de dicho grupo se evidencia un franco descenso en cuanto a la angiogénesis y sobre todo, en cuanto a la población de células inflamatorias, hallando en la microscopia óptica un aspecto de cicatriz madura caracterizado por depósitos densos de colágena dispuestos en forma regular una apariencia histológica muy similar a la piel sana circundante (Fig. 6).

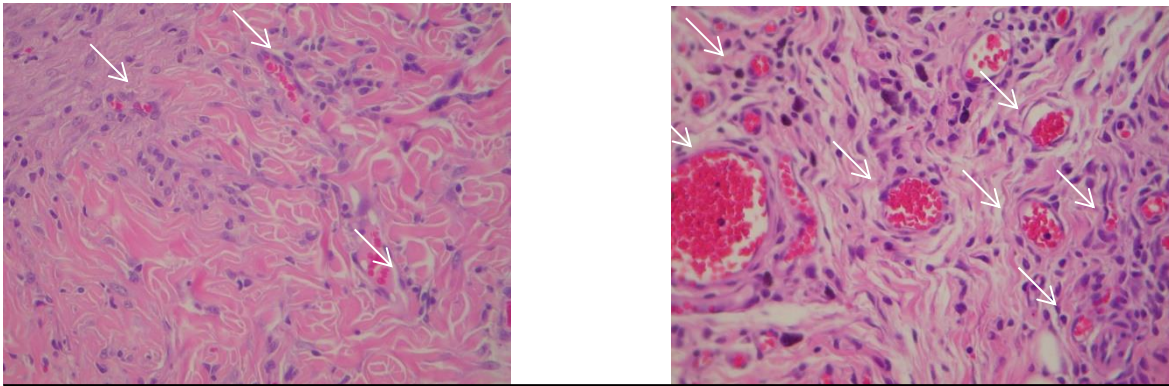


**Fig. 5** - Infiltrado de Macrófagos y Células Gigantes Multinucleadas

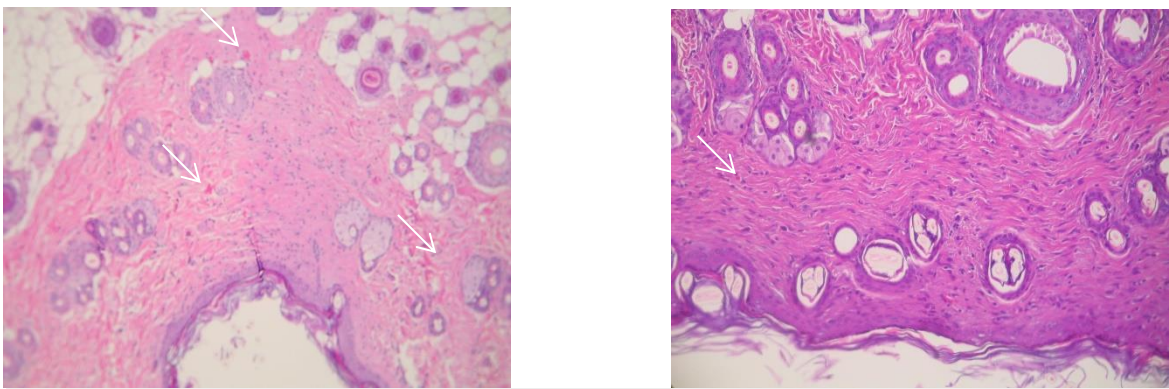


**Fig. 6** - Cicatriz al día 28 con abundantes depósitos de colágena

Por otra parte, encontramos diferencias notables en cuanto a la curva de inflamación al contrastar el grupo suturado con ácido poliglicólico simple y potenciado con factores de crecimiento, ya que encontramos una respuesta inflamatoria muy similar al día 7 entre ambos grupos, sin embargo en cuanto a la angiogénesis al día 7 y 28 y al tejido inflamatorio remanente al día 28, encontramos una disminución muy importante en el grupo experimental (Figs. 7 y 8).



**Fig. 7** - Comparativo de capilares de neoformación entre grupos suturados con Nylon (izq) y con Ácido Poliglicólico enriquecido con Factores de Crecimiento (der) al día 7



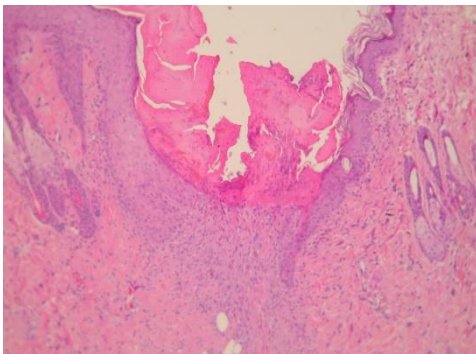
**Fig. 8** - Comparativo de capilares de neoformación entre grupos suturados con Nylon (izq) y con Ácido Poliglicólico enriquecido con Factores de Crecimiento (der) al día 28

Es así que como demostramos en las tablas de significancia, existieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la angiogénesis en los días 7 entre el grupo suturado con ácido poliglicólico potenciado con factores de crecimiento y el resto de los grupos. Asimismo, se hallaron diferencias importantes aunque no suficientemente significativas, con  $p > 0.05$  en cuanto a la concentración de tejido inflamatorio.

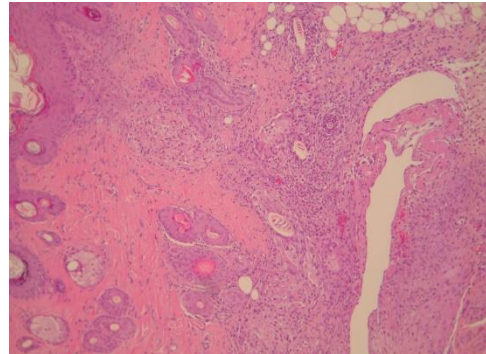
Finalmente, en cuanto a complicaciones, se presentaron mayor número de dehiscencias en el grupo de nylon al día 7 y un par de pacientes abscedados y con focos de necrosis en el mismo grupo con presencia de sutura al día 28 (Fig. 9). No obstante, cabe recalcar que dicho grupo era el único con material de sutura expuesto por medio de cabos que permanecen al momento de realizar la sutura

en puntos simples, por lo cual se encuentran más susceptibles a tracción y lesión por los sujetos experimentales.

Por otra parte, en aquellos pacientes con sutura absorbible en puntos simples invertidos, encontramos como principal complicación la invaginación de folículos pilosos pericicatrizales (Fig. 10)



**Fig 8** – Costra melisérica en paciente suturado con Nylon



**Fig 9** – Múltiples folículos pilosos incrustados en capas profundas de la piel

Sabemos que el empleo de tejido adiposo es actualmente uno de los procedimientos que se emplean comúnmente para mejorar la apariencia y la calidad de cicatrices en pacientes con antecedente de trauma o procedimientos quirúrgicos, de la misma forma, mucho se ha reportado sobre la presencia de células mesenquimales en esta población, así como sus beneficios en cuanto a inmunomodulación, angiogénesis y proliferación celular, acompañado de una fácil obtención y posterior aplicación<sup>11</sup>. Sin embargo, el procesamiento de la grasa es aún tema de controversia en cuanto a la supervivencia de la misma y la conservación de las células mesenquimales, por lo que la posibilidad de aplicar un concentrado proteico que reuniera los beneficios moleculares de las células mesenquimales con la facilidad de empleo y transporte, nos pareció una posibilidad muy atractiva para nuestro estudio.

En la bibliografía internacional, encontramos múltiples reportes que comentan resultados sobre el empleo de células mesenquimales y sus derivados

en diversos tejidos con resultados generalmente favorables como son los estudios reportados por Fromm-Dornieden y Menendez-Menendez et al<sup>6,7</sup> quienes comentan sobre beneficios de terapia celular en úlceras por presión e incluso lesiones por radioterapia. Asimismo, nos dimos a la tarea de buscar y comparar diversos resultados *in vivo* e *in vitro* y en diversas poblaciones celulares y tejidos, desde cardiomiocitos hasta lesiones tendinosas en modelos animales<sup>9,12</sup>. En general, los resultados muestran ser prometedores, por lo posteriormente, nos encontramos con la problemática de añadir un transporte adecuado para las citosinas, ante lo cual, encontramos algunos estudios como el de Casado et al, quien comenta sobre la aplicación de células mesenquimales en material de sutura desde un punto de vista molecular y en cuanto a los métodos para corroborar su permanencia en dicho material.<sup>4</sup> Por otra parte, Bosch Volpe et al, emplea células mesenquimales derivadas de tejido adiposo en cierre de fístulas intestinales en modelo animal con resultados alentadores<sup>9</sup>. No obstante, los protocolos para el aislamiento y la aplicación de células mesenquimales en materiales de sutura no logran un consenso en cuanto al procesamiento de los mismos y en general, proponen procesos complejos para lograr dicho propósito.

Por dicho motivo, en nuestro estudio decidimos emplear el concentrado aislado de factores de crecimiento derivados de células madre con el objetivo de corroborar sus beneficios y la factibilidad de su aplicación en material de sutura para el cierre de heridas cutáneas, con resultados igualmente alentadores en cuanto a la apariencia macro y microscópica del tejido cicatrizal, así como evidencia estadísticamente significativa sobre la angiogénesis de la misma, con un margen mínimo de complicaciones.



## **CONCLUSIONES:**

El manejo de las heridas es un tema complejo debido a la naturaleza secuencial y en ocasiones superpuesta de la respuesta inflamatoria y la cascada de eventos que componen el proceso de cicatrización. En los últimos años, hemos evidenciado a partir de múltiples ensayos clínicos, el papel que pueden jugar las células mesenquimales y sus proteínas derivadas sobre la respuesta metabólica en diversos procesos. En este estudio ponemos de manifiesto el rol inmuno y angiomodulador y los beneficios que pueden aportar estos factores de crecimiento y citosinas en coadyuvancia con un transporte físico como puede ser una sutura multifilamento absorbible para la síntesis de tejidos. Es así que proponemos este proyecto como base para nuevos estudios que nos permitan esclarecer los mecanismos a través de los cuales podemos beneficiarnos del empleo de células madre y sus derivados, así como para nuevos estudios en pacientes con heridas crónicas o factores desfavorables para una cicatrización adecuada.

La principal fortaleza de nuestro estudio es la factibilidad y reproductibilidad del mismo con el empleo de este extracto proteico, por lo que, a futuro proponemos realizar estudios clínicos en pacientes con heridas cutáneas de diversa complejidad. Como posible limitante encontramos el periodo de estudio, lo que abre la posibilidad a estudiar la consistencia de resultados a largo plazo en tejidos de modelo animal e incluso, eventualmente, en seres humanos.

## **APOYO BIBLIOGRÁFICO:**

1. Sarah Sorice, Kristine C. Rustad, Alexander Y Li, Geoffrey C. Gurtner, The Role of Stem Cell Therapeutics in Wound Healing: Current Understanding and Future Directions, *Plastic and Reconstructive Surgery* • September Supplement 2016.
2. Jeffrey E. Janis, Bridget Harrison, Wound Healing: Part I, Basic Science, *Plast Reconstr Surg*. 133:199e–207e, 2014.
3. Nkemcho Ojeh, Irena Pastar, Marjana Tomic-Canic, Olivera Stojadinovic, Stem Cells in Skin Regeneration, Wound Healing, and Their Clinical Applications, *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16: 25476-25501.
4. Javier G. Casado, Rebeca Blazquez, Inmaculada Jorge, Veronica Alvarez, Guadalupe Gomez-Mauricio, Mariano Ortega-Muñoz, Jesus Vazquez and Francisco M. Sanchez-Margallo. Mesenchymal stem cell-coated sutures enhance collagen depositions in sutured tissues, *Wound Repair and Regeneration*, 2014, 22: 256–264.
5. Mayumi Anan, Kazuyoshi Uchihashi, Shigehisa Aoki, Aki Matsunobu, Akifumi Ootani, Koichi Node, and Shuji Toda, A Promising Culture Model for Analyzing the Interaction between Adipose Tissue and Cardiomyocytes, *Endocrinology*, April 2011, 152(4):1599–1605
6. C Fromm-Dornieden, P Koenen, Adipose-derived stem cells in wound healing: recent results *in vitro* and *in vivo*, *Open Access Molecular & Cell Biology* 2013 Dec 20;1(1):8
7. Menendez-Menendez Yolanda\*, Alvarez-Viejo Maria\*, Ferrero-Gutierrez Amaia, Perez-Basterrechea Marcos, Perez Lopez Silvia, Escudero Dolores and Otero-Hernandez Jesús, Adult Stem Cell Therapy in Chronic Wound Healing, *Stem Cell Research and Therapy*, 2014, 4: 162-167
8. Anna I Arno, Saeid Amini-Nik, Patrick H Blit, Mohammed Al-Shehab, Cassandra Belo, Elaine Herer, Col Homer Tien and Marc G Jeschke, Human Wharton’s jelly mesenchymal stem cells promote skin wound healing through paracrine signaling, *Stem Cell Research & Therapy* 2014, 5:28
9. Bruno Bosch Volpe, Adriana Da Silva Santos Duarte, Thiago Borsoi Ribeiro, Ithamar Stocchero, Paulo Kharmandayan, Sara Teresinha Olalla Saad, Joaquim Murray Bustorff-Silva and Ângela Cristina Malheiros Luzo, Mesenchymal stromal cells from adipose tissue attached to suture material enhance the closure of enterocutaneous fistulas in a rat model, *Cytotherapy*, 2014; 16: 1709-1719.
10. Xiao-Yan Jiang, De-Bin Lu, Bing Chen, Progress in stem cell therapy for the diabetic foot, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2012, 97: 43-50
11. Mariana Teixeira Cerqueira, Rogerio Pedro Pirraco, and Alexandra Pinto Marques, Stem Cells in Skin Wound Healing: Are We There Yet?, *Wound Healing Society, Advances in Wound Care*, 2014, 0: 1-12

12. David C. Lee and Lew C. Schon, Use of stem cell bearing sutures in foot and ankle surgery, *Current Orthopaedic Practice* 2013, 24(5): 465-468
13. Yoko Nakamura, Hidefumi Ishikawa, Katsuya Kawai, Yasuhiko Tabata, Shigehiko Suzuki, Enhanced wound healing by topical administration of mesenchymal stem cells transfected with stromal cell-derived factor-1, *Biomaterials*, 2013, 34: 9393-9400
14. Poren Kong, Xiaoyun Xie, Fang Li, Yang Liu, Yingli Lu, Placenta mesenchymal stem cell accelerates wound healing by enhancing angiogenesis in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 438: 410-419
15. Bruno Amato, Rita Compagna, Maurizio Amato, Lucia Butrico, Francesco Fugetto, Mariia D Chibireva, Andrea Barbeta, Marco Cannistrà, Stefano de Franciscis & Raffaele Serra, The role of adult tissue-derived stem cells in chronic leg ulcers: a systematic review focused on tissue regeneration medicine, *International Wound Journal*, doi: 10.1111/iwj.12499
16. Dinesh K. Badyal and Chetna Desai, Animal use in pharmacology education and research: The changing scenario, *Indian Journal of Pharmacology*. 2014 May-Jun; 46(3): 257–265.
17. Norma Oficial Mexicana 062-Z00-1999 Consideraciones técnicas para la producción y uso de animales de laboratorio.
18. Eun Young Lee, Ying Xia, Won-Serk Kim, Myoung Hee Kim, Tae Hwan Kim, Byung-Soon Park, Jong-Jyuk Sung, Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: Increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF: *Wound Repair and Regeneration*. 2009 17: 540-547.
19. Hirotaro Fukakoka, Hirotaka Suga, Keigo Narita, Rei Watanabe, Satoru Shintani, The Latest Advance in Hair Regeneration Therapy Using Proteins Secreted by Adipose-Derived Stem Cells: *The American Journal of Cosmetic Surgery*. 2012, 29: 273-282.
20. Won-Serk Kim, Byung-Soon Park, Jong-Hyuk Sung, Protective role of adipose-derived stem cells and their soluble factors in photoaging: *Archives for Dermatological Research*. 2009 301(5):329-3.
21. Byung-Soon Park, Kyoung Ae Jang, Jong-Hyuk Sung, Jeong-Soo Park, Yong Hyun Kwon, Kea Jeong Kim, Won-Serk Kim, Adipose-derived stem cells and their secretory factors as a promising therapy for skin aging: *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery* 2008, 34 (10): 1323-6.
22. Won-Serk Kim, So-Hyun Park, Se-Jin Ahn, Hyung-Ki Kim, Jeong-Soo Park, Ga-Yong Lee, Kea-Jeung Kim, Kyu-Kwang Whang, Seung-Hee Kang, Bung-Soon Park, Jong-Hyuk Sung, Whitening effect of adipose-derived stem cells: A critical role of TGF- $\beta$ 1: *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 31(4), 606-610.
23. Hyoseung Shin, Hyeong Ho Ryu, Oshang Kwon, Byung-Soon Park, Seong Jin Jo, Clinical use of conditioned media of adipose tissue-derived stem cells in female pattern hair loss: a retrospective case series study. *International Journal of Dermatology* 2015, 54: 730-735.

24. Ficha técnica del producto AAPE® de Prostemics®

