



AVANCES SOBRE CIRUGÍA RECONSTRUCTIVA DE LA PIEL

# Sustitutos dérmicos y células multipotentes

La reconstrucción de la piel luego de algún tipo de trauma, quemadura, infección o resección oncológica mayor es un desafío, ante el cual disponemos de varias estrategias, que, dependiendo de las necesidades, pueden variar desde curaciones con apósitos especiales a injertos de piel.

Los sustitutos dérmicos son una alternativa actual, se pueden utilizar sin la necesidad de un tiempo quirúrgico prolongado y sin las complicaciones asociadas con el sitio dador de un injerto o colgajo. Los sustitutos dérmicos disponibles pueden ser obtenidos a partir de piel cadavérica a la cual se le han removido sus componentes celulares, dejando la matriz de colágeno (Alloderm®, Dermalogen®) o sintetizados en forma artificial como es el caso de Integra®.

El uso de Integra® fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration, USA) para su uso rutinario en quemaduras en 1996. Posteriormente se ha extendido el rango de aplicaciones como para la restitución de piel total en resecciones de nevos gigantes, cobertura y protección de tendones y huesos expuestos (Jeng *et al.*, 2007)

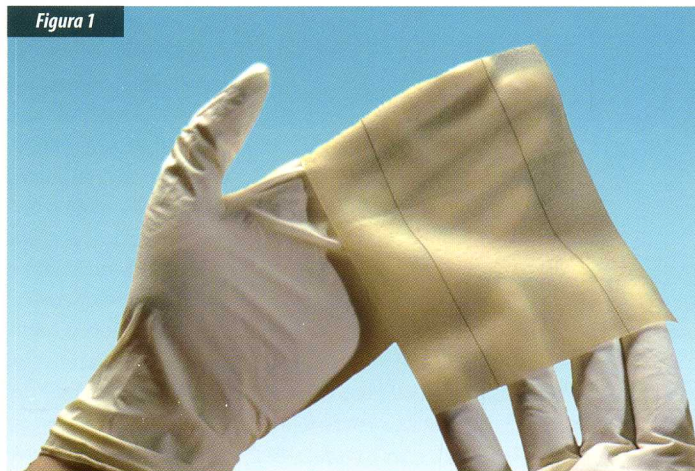
Integra® es una membrana bilaminar compuesta por una lámina superior de silicona y una lámina inferior de colágeno tipo 1 proveniente de tendón de bovino, recubierto con el glicosaminoglicano condroitina-6-sulfato de tiburón. El tamaño de los poros permite la infiltración de fibroblastos y capilares. En la figura 1 podemos ver este sustituto dérmico cuya presentación es en láminas, tiene un aspecto y color similar a la piel y, además, tiene maniobrabilidad. En la figura 2 se visualiza

una microfotografía electrónica, en donde se observan los detalles de la estructura porosa una vez extraído el film de silicona.

Al utilizar esta matriz dérmica artificial se lava con solución fisiológica (NaCl 0,9%), para luego ser cortada según el tamaño de la lesión. Se sutura a la piel adyacente con puntos separados. El film de silicona actúa protegiendo el injerto para evitar la pérdida de fluidos y el contacto con el medio externo durante este período de regeneración. Durante las primeras horas esta "esponja" es invadida por un exudado con glóbulos rojos y fibrina que adhiere la matriz al lecho de la herida.

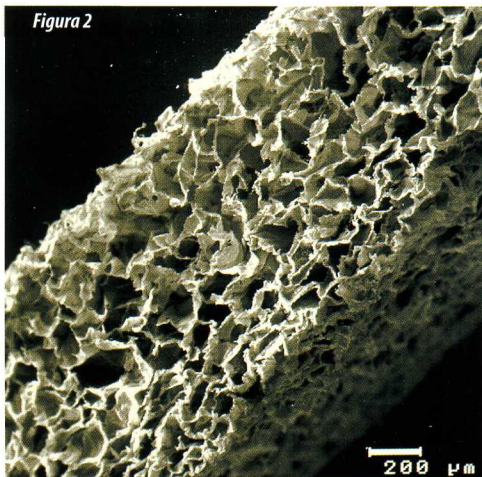
Una semana más tarde, cuando se ha comprobado la neovascularización de la zona, por el cambio de color desde el nácar al damasco, se puede reti-

**Figura 1.** Integra es una matriz con apariencia de piel flexible, tiene un lado mas brillante que corresponde al film de silicona.



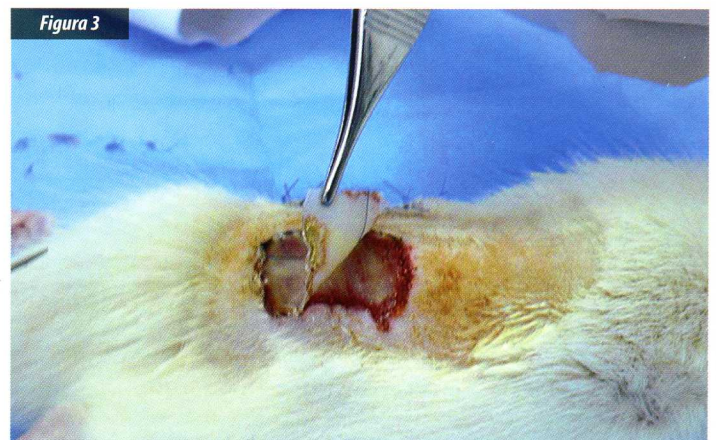
rar el film de silicona dejando la matriz neovascularizada al aire para permitir el crecimiento de los queratinocitos (células de la epidermis) (Figura 3). Los fibroblastos llegan a la matriz dérmica antes del séptimo día post trasplante; se identifican como células en forma de huso que contienen abundante citoplasma y un núcleo oval (figura 4). Además, ocurre un proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis), al principio se ven células endoteliales que forman columnas sólidas y que luego se canalizan. El colágeno natural va sustituyendo al artificial desde la profundidad hacia la superficie.

**Figura 2.** Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de un segmento de Integra® al cual se le ha extraído el film de silicona. Se observa una organización tridimensional de colágeno con poros que miden entre 70 y 200 µm de diámetro.



A los 21 días (Figura 5) la matriz dérmica ha sido poblada por fibroblastos. El colágeno del sustituto dérmico es reemplazado por el propio del animal. En nuestro estudio hemos determinado una diferencia entre el colágeno implantado y el neoforado mediante la tinción rojo sirius, presentando este último fibras más finas y cortas. Además se puede observar la presencia de células gigantes y eosinófilos en la zona debido a reacción de cuerpo extraño.

Si bien la instrucción para el uso de este sustituto dérmico exige la adición de un segundo tiempo



**Figura 3.** Retiro de la lámina de silicona siete días después del implante del sustituto dérmico.



Dr. Manuel Meruane M.D.  
Cirujano General  
Magíster en Cs. Biomédicas,  
Facultad de Medicina, U. de Chile



Dra. Mariana Rojas M.V.  
Profesora Asociada,  
Facultad de Medicina, U de Chile  
Jefe del Laboratorio  
Embriología Comparada, ICBM.

Figura 4

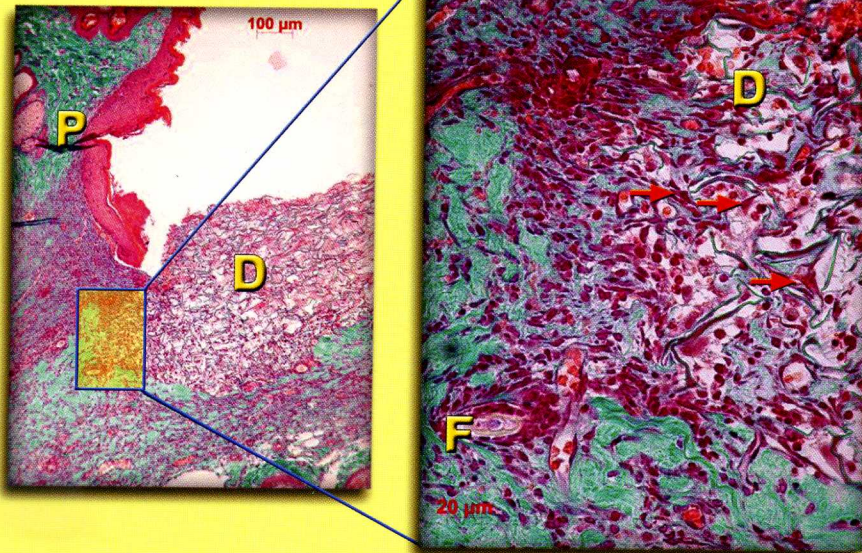


Figura 4. Corte histológico del injerto al día siete. A la izquierda se observa la interfase entre la piel normal (P) y el sustituto dérmico (D). A la derecha se ve un mayor aumento de la interfase del recuadro, donde se identifica la presencia de nuevos vasos sanguíneos. Además, el colágeno nativo (verde denso) invade las cavidades limitadas por el colágeno artificial, aparecen múltiples fibroblastos (flechas), en conjunto con células inflamatorias. Formación de nuevos vasos sanguíneos en relación a un folículo piloso (F). Tinción tricrómica de Masson (A) 100X, (B) 400X.

rado como una fuente potencial de células de los productos sustitutos de la piel.

Un hecho importante, a la hora de estudiar la cicatrización, es la propiedad que tienen los mamíferos en etapa prenatal de regenerar la piel sin cicatriz evidente, cualidad que se pierde luego del nacimiento. Comprender los mecanismos por los cuales las heridas fetales se regeneran y no cicatrizan podría dar lugar a un verdadero avance en el conocimiento de este tema. La curación de heridas fetales sin cicatrices se atribuye a una disminución de la respuesta inflamatoria, la reducción de la formación del coágulo de fibrina y desgranulación de las plaquetas. Los factores de crecimiento transformante (TGF) han sido muy estudiados en relación a la curación sin cicatrices y se estableció que las isoformas TGF- $\beta$ 1 y  $\beta$ 2 son bajos o inexistentes durante la cicatrización de las heridas fetales, mientras que la concentración de

quirúrgico para injertar la parte epidérmica; en ocasiones, la contracción de la herida, la migración de progenitores epidérmicos desde los bordes cruentos y desde los folículos pilosos podría ser suficiente para generar un epitelio nuevo. Por otro lado, en varios laboratorios se está tratando de desarrollar una metodología que incluya las células epidérmicas asociadas a la matriz en el primer tiempo quirúrgico (Chu *et al.* 2002; Mis *et al.*, 2004).

Los sustitutos de la piel sólo reemplazan la función de protección, pero no tienen la capacidad de restaurar las otras funciones tales como el tacto y temperatura, excreción, transpiración, termorregulación, y la protección de los rayos ultravioleta (Shevchenko *et al.* 2010). Por ahora se está trabajando en restaurar los folículos pilosos y glándulas sebáceas, pero no se ha logrado. Las células derivadas de médula ósea también se han conside-

Figura 5

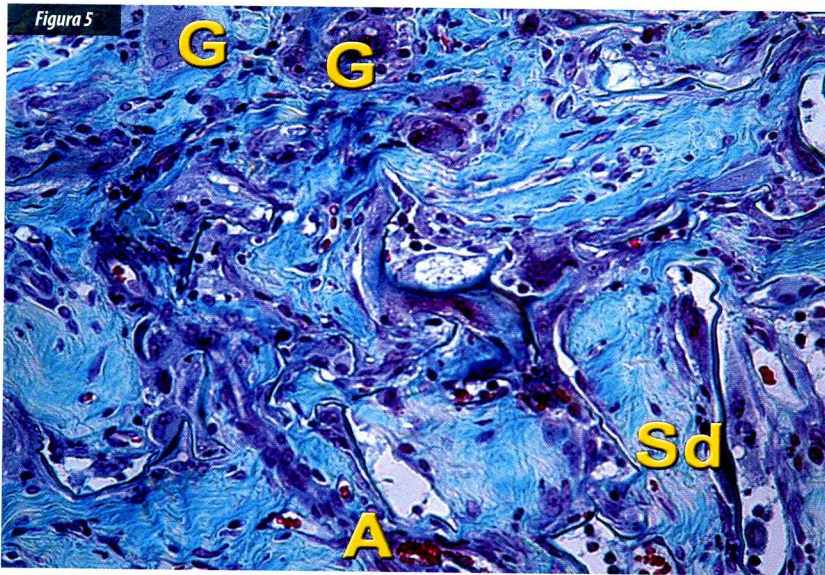


Figura 5. A los 21 días post trasplante continúa la formación de vasos sanguíneos (A), el colágeno nuevo ha llenado completamente las cavidades del sustituto dérmico (Sd), sólo quedan algunos restos del colágeno bovino, se evidencian múltiples células gigantes (G) que podrían fagocitar los restos de la esponja dérmica. Tricrómico de Masson 400X

Figura 6

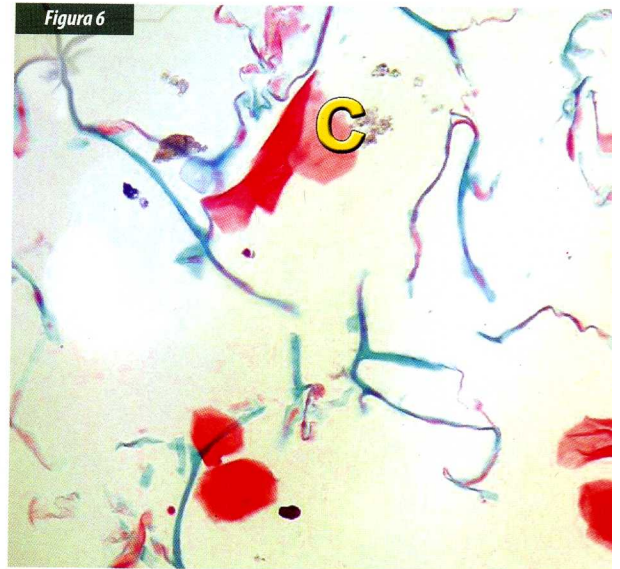


Figura 6. Células cultivadas "In vitro" (color rojo) (C) sobre el colágeno de la matriz dérmica. Tricrómico de Masson 400X.

la isoforma TGF- $\beta$ 3 es significativamente más alta. Por el contrario, durante la cicatrización de la herida de adultos, la cantidad de TGF- $\beta$ 3 es insignificante, pero las cantidades de TGF- $\beta$ 1 y - $\beta$ 2 se elevan por degranulación plaquetaria y la síntesis por las células de estirpe monocítica. (Shevchenko et al. 2010). Es preciso recordar que una cicatrización sin control puede dar lugar a defectos estéticos y la posible pérdida de la función.

La aplicación de células cultivadas a un injerto dérmico disminuye el tiempo de cicatrización. Los ensayos clínicos que han agregado queratinocitos (células de la epidermis) y fibroblastos autólogos cultivados "in vitro" tienen resultados alentadores. El trabajo con células vivas en la práctica clínica veterinaria y humana es complejo, ya que se presentan problemas de transporte y condiciones de almacenamiento. Por otra parte, la duración limitada y la naturaleza lábil de las células dificultan

la coordinación entre los laboratorios de cultivo de tejidos y los pabellones quirúrgicos donde se aplicarán.

En el laboratorio de Embriología Comparada de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, se trabaja en adicionar al sustituto dérmico artificial (previo al trasplante) células troncales derivadas del tejido adiposo (Meruane y Rojas, 2010) (Figuras 6) las cuales formarán queratinocitos para optimizar la cicatrización en áreas desprovistas de piel. Dentro de nuestros resultados preliminares hemos visto que la regeneración de la superficie apical de la piel es mejor cuando se han implantado las células troncales derivadas del tejido adiposo. En la figura 7, la piel con injerto de sustituto dérmico más implante de células troncales presenta un revestimiento de células aplanadas, sin fibrina, ni células inflamatorias, de aproximadamente 10 $\mu$ m de grosor. La dermis neo formada

**Referencias**

1. Chu, C.S., McManus, A., Albert T., Matylevich, N., Goodwin, C. and Pruitt, B. 2002. Integra as a dermal replacement in a meshed composite skin graft in a rat model: a one-step operative procedure. *Journal of Trauma-Injury Infection and Critical Care*. 52: 122-129.
2. Jeng, J.C., Fidler P.E., Sokolich J.C., Jaskille, A.D., Khan S., White P.M., et al. 2007. Seven years' experience with Integra as reconstructive tool. *Journal of Burn Care and Research*. 28: 120-126.
3. Mis, B., Rolland E. and Ronfard V. 2004. Combined use of a collagen-based dermal substitute and a fibrin-based cultured epithelium: a step toward a total skin replacement for acute wounds. *Burns* 30: 713-19,
4. Meruane, M., & Rojas, M. 2010. Células troncales derivadas del tejido adiposo. *Int. J. Morphol.* 28. (3): 879-889.
5. Shevchenko R.V., James S.L. & James E. 2010. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available skin for reconstruction. *J. R. Soc. Interface*; 7: 229-258.

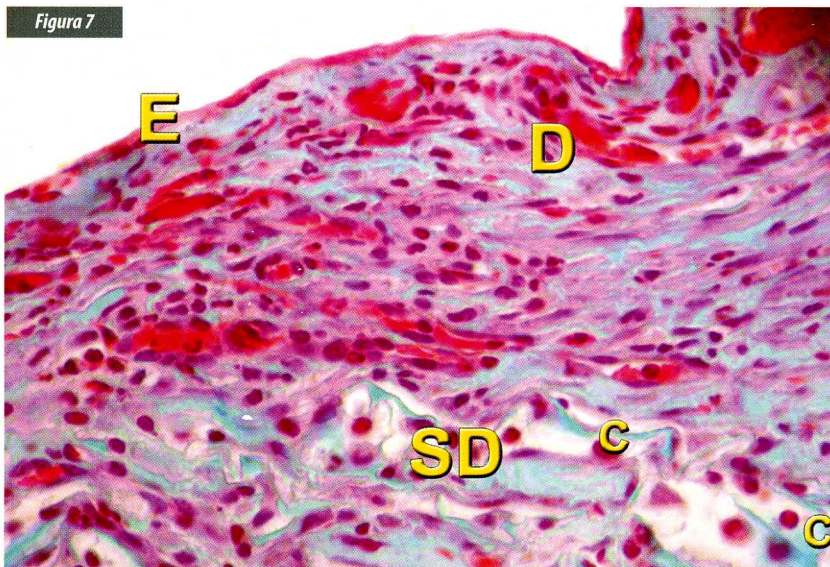
presenta menos cantidad de células inflamatorias. El sustituto dérmico presenta aún restos de colágeno bovino, en términos generales se ve una piel muy sana.

Una ventaja del uso de materiales artificiales es la disponibilidad ilimitada de éste, pero la desventaja es el costo. De todos modos, como este elemento se ha masificado bastante en la cirugía reconstructiva humana sus costos se han hecho más accesibles y pronto se podrán utilizar para solucionar problemas de los animales domésticos que lo necesiten.

Se espera en un futuro próximo perfeccionar esta técnica que permitirá adicionar células multipotentes a la matriz dérmica, para acelerar la regeneración de tejidos, de esta manera será posible solucionar problemas tales como: quemaduras, infecciones o secuelas de resecciones oncológicas; en las diferentes especies animales que lo puedan necesitar, en especial los animales pequeños (perros y gatos).

**Agradecimientos:**

A Promedon Ltda., por la donación del material de estudio Integra®. Al Dr. Arturo Ferreira V., por facilitar el uso de la sala de Criogenia. A los Drs. Estefanía Flores y Gino Cattaneo por revisar este manuscrito y a Simón Saavedra por la edición fotográfica.



**Figura 7.** Piel con injerto de sustituto dérmico más implante de células troncales. En la superficie apical se identifica un revestimiento de células aplanadas, sin fibrina, ni células inflamatorias (E). La dermis neo formada es bien vascularizada (D). El sustituto dérmico SD presenta aún restos de colágeno bovino (C). Tricrómico de Masson 400X.