

ANALISIS HISTOLÓGICO DEL INJERTO DE CÉLULAS MESOTELIALES EN LA CICATRIZACION CUTÁNEA

Patricia Alejandra Bertone¹, Alicia Carmen Suarez¹, María Elena Torretta¹, Danisa Castro Sardiña¹, Claudio Marcelo Boaglio¹, Daiana Espamer¹, Franchesca Ruiz², Alejandro Aramayo¹

¹ Departamento de Clínica Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto. Córdoba. Argentina.

² Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto. Córdoba Argentina.

e-mail: patriciabertone@gmail.com.ar

RESUMEN

La plasticidad de las células mesoteliales de diferenciarse en distintos tipos de líneas celulares y la síntesis de distintos factores de crecimiento otorgan un uso potencial como promotor de la cicatrización. Objetivo: evaluar histológicamente el efecto cicatrizante del injerto de células mesoteliales peritoneales autólogas en heridas de piel en conejos. Materiales y Métodos: diseño de tipo experimental Se realizaron dos heridas circulares de piel en el dorso de cada conejo (n: 10). Se colocó del lado derecho, con puntos de sutura simples, el injerto de células mesoteliales, obtenidas por laparotomía de cada animal y el lado izquierdo sin tratamiento, herida control. Se obtuvieron biopsias de piel a 7 y 14 días. Las muestras se fijaron en formaldehído 10%. Se utilizó tinción de hematoxilina y eosina. Se evaluó el proceso de cicatrización analizando el número de células inflamatorias, fibroblastos y vasos sanguíneos. La comparación entre variables numéricas se realizó a través de Test de Student. Resultados: los valores medios obtenidos para fibroblastos demostraron

para los días de biopsia cifras promedio significativamente mayores ($p < 0,05$) en las heridas tratadas con el injerto de células mesoteliales. Conclusión: el empleo de injertos de células mesoteliales autólogo favorece el proceso de cicatrización cutánea en conejos.

Palabras clave: cicatrización, piel, células mesoteliales, injerto.

INTRODUCCIÓN

La cicatrización es un proceso biológico, dinámico e interactivo en el cual participan diversos mediadores extracelulares y diferentes células sanguíneas, inflamatorias y de la matriz tisular; lo que conduce a la reparación y restauración del tejido lesionado o en algunos casos en la sustitución del mismo con fibras de colágeno. Este proceso comienza inmediatamente luego de ocurrida la lesión (1, 2, 3, 4).

Los injertos libres son segmentos de tejidos que carecen de fijación vascular, la adhesión del mismo al tejido dependerá de los líquidos que pueda absorber del medio. Existen distintos tipos de injertos libres y se los puede encontrar clasificados según tejido, espesor, forma y origen, en este caso como autoinjerto, aloinjerto, y xenoinjerto. La principal función de estos injertos es ayudar al proceso de cicatrización cuando los métodos convencionales no son suficientes para lograrlo (3,4).

Las células mesoteliales provenientes de tejidos como el peritoneo, pleura o pericardio han sido identificadas como una fuente de células madre adultas, lo que puede tener perspectivas futuras en los campos de la ingeniería tisular y de la síntesis de injertos vasculares; por sus propiedades regenerativas, específicamente células mesoteliales peritoneales del epiplón han sido empleadas en todos los campos de la cirugía intraabdominal, desde la reconstrucción de heridas complejas en los órganos hasta la protección de anastomosis gastrointestinales (5, 6, 7).

Entre las características funcionales de las células mesoteliales se considera que son responsables de uno de los procesos de cicatrización más rápidos y sintetizan varios factores de crecimiento que son estimulantes y quimiotácticos de la cicatrización; además poseen la capacidad de diferenciarse en otras series celulares (8, 9, 10).

Las células mesoteliales son responsables de generar en forma de islas la regeneración tisular, proceso que acelera la cicatrización y de ahí la génesis de las adherencias intrabdominales; este proceso activa la secuencia de inflamación, el depósito de fibrina junto a exudado inflamatorio y, posteriormente, una organización

de la fibrina con invasión de fibroblastos que conduce a la creación de colágeno (11). La capacidad de las células mesoteliales de diferenciarse en distintos tipos de líneas celulares según la demanda del medio cercano es la plasticidad y esta característica es la que provee su versatilidad para transformarse en cualquier tejido y su potencial como estimulador de la cicatrización (12).

Por lo que la plasticidad de las células mesoteliales y la síntesis de distintos factores de crecimiento podría constituir una alternativa terapéutica para manejo de heridas complejas.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue evaluar histológicamente el efecto cicatrizante del injerto de células mesoteliales peritoneales autólogas en heridas de piel en conejos.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Modelo animal

Las experiencias se realizaron a 10 conejos albinos neozelandeses (*Oryctolagus cuniculi*) machos y hembras, clínicamente sanos, de peso y tamaño uniforme (4 Kg) El protocolo de trabajo experimental fue aprobado para uso de animales por el Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Nacional de Río Cuarto (CoEdi).

2. Obtención de material de estudio

Se empleo tejido omental obtenido, por laparotomía mediana pre retro umbilical y se extirpa aproximadamente 5 mm de membrana peritoneal parietal, de cada conejo al momento del a cirugía.

3. Diseño experimental

3.1. Procedimiento quirúrgico y evaluación histológica

Todos los conejos se sometieron a procedimiento quirúrgico con anestesia general en el Hospital de Clínica Animal perteneciente a la Facultad de Agronomía y Veterinaria UNRC. En cada animal se realizaron dos heridas piel de espesor completo, circulares (10 mm), en el dorso: una a cada lado de la columna. Al momento de la cirugía solo en las heridas derechas se realizó el injerto de las células mesoteliales autólogas, obtenida por laparotomía, se implanta inmediatamente en la herida, el implante se sutura a la piel con tres puntos simples de polipropileno 5/00, herida izquierda control. La síntesis de la laparotomía se realizó por planos anatómicos. Se obtuvieron biopsias de piel a 7 y 14 días. Las muestras se fijaron en solución acuosa de

formaldehído (10%) y se incluyó en parafina. Se realizaron cortes histológicos de 4 μm de espesor y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Se evaluó el proceso cicatrizal analizando el número de células inflamatorias, fibroblastos y vasos sanguíneos, por observación directa al microscopio óptico (40x) en cinco campos aleatorios de cada preparado.

3.2. Análisis Estadístico

Se realizaron comparaciones entre las heridas tratadas y control en relación a las variables numéricas: células inflamatorias, fibroblastos y vasos sanguíneos, que se sometieron a test de Student. Para las diferencias entre las medias de los grupos se estableció una significancia estadística con un valor $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

En la evaluación histológica del proceso de cicatrización las heridas tratadas con injerto de células mesoteliales, la primera semana, revelaron mayor tejido de granulación en relación con las heridas control.

A los 7 días en ambas heridas se observaron células inflamatorias; se observó en la herida tratada engrosamiento del epitelio, integración del injerto entre fibras colágenas y mayor cantidad de vasos sanguíneos y fibroblastos (Figura 1) en comparación con la herida control (Figura 2).

A los 14 días se registraron cambios en la herida tratada, donde la presencia de células inflamatorias ya no era tan marcada, mayor cantidad de fibroblastos y reorganización de las fibras colágeno de la dermis (Figura 3) en una etapa de remodelación, mientras que en herida control se observa mayor cantidad de células inflamatorias y vasos sanguíneos propios de una etapa proliferativa de la cicatrización (Figura 4).

Se analizaron las variables células inflamatorias, fibroblastos y vasos sanguíneos

Los valores medios obtenidos en este estudio para fibroblastos demostraron a los 7 y 15 días, cifras promedio significativamente mayores ($p < 0,05$) en las heridas tratadas con el injerto de células mesoteliales que las controles.

DISCUSIÓN

La cicatrización de la piel es un proceso complejo y dinámico que requiere la migración de células de diferentes tipos y tiempo (1, 2, 3, 4) en esta investigación se evaluaron los cambios histológicos de este proceso durante un período de 14 días

con injerto de las células mesoteliales peritoneales del epiplón, que han sido empleadas en todos los campos de la cirugía intraabdominal (5, 6, 7).

La indicación quirúrgica de emplear injertos es promover el proceso de cicatrización en casos de resolución compleja, como lo describe la bibliografía (3, 4) entre los distintos tipos de injertos libres clasificados, el empleo del omento del paciente es considerado un autoinjerto.

Los hallazgos histológicos de este estudio demostraron que el empleo de células mesoteliales mejora significativamente la cicatrización de la piel, una primer observación es la cantidad de células inflamatorias, en la primer biopsia de la herida tratada mayor cantidad de células inflamatorias y vasos sanguíneo, que disminuyen a los 14 días; por lo que el proceso inflamatorio fue más corto y controlado, que es consistente con la descripción de Mutsaers (9) respecto que las células mesoteliales poseen diferentes sustancias que ayudan a la regulación de los procesos inflamatorios, de tal manera que no sea exacerbado.

Por otro lado, la reorganización de las fibras colágeno de la dermis en la segunda biopsia de la herida tratada coincide con la mención de las funciones de las células mesoteliales, entre las que se describió la producción de fibras colágeno (11) y con los resultados del estudio de Ezparza *et al.* (7) quienes comprobaron una mayor producción de colágeno y mejor aspecto estético de heridas experimentales en ratas cuando emplearon células mesoteliales.

La mayor cantidad de fibroblastos en las heridas tratadas se puede atribuir a la plasticidad que poseen las células mesoteliales mencionadas por Herrick y Mutsaers (12), estas células podían sufrir un proceso de transformación y adquirir la forma de varias células del tejido conectivo, como puede ser miofibroblastos, células musculares, condroblastos, entre otras, siempre que estuviesen presentes los factores de crecimiento específicos para estas células y que coincide con distintos autores (8, 9, 10) que consideran entre las características funcionales de las células mesoteliales, además de poseer la capacidad de diferenciarse en otras series celulares, sintetizan varios factores de crecimiento que son estimulantes y quimiotácticos de la cicatrización.

Esta plasticidad ya había sido demostrada en varios estudios (6, 7, 12) en los que las células mesoteliales peritoneales actuaron como potentes estimuladores del proceso de reparación.

En los conejos a los cuales se les implantó peritoneo se observó que al día 14 presentaron características compatibles con una fase de remodelación, a diferencia de las heridas control con características de cicatrización correspondieron a una fase de proliferación, lo que mostró proceso de cicatrización más rápido con el injerto.

CONCLUSIONES

De acuerdo con el modelo evaluado y los valores promedio de los fibroblastos, el empleo de injertos de células mesoteliales autólogo infiere una respuesta satisfactoria en la fibroplasia y en consecuencia favorece el proceso de cicatrización cutánea en conejos; constituyendo una alternativa terapéutica en heridas complejas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hernández, GA. Fisiología de la cicatrización cutánea. RFS Revista Facultad de Salud, 2010. 2, (2): 69-78.
2. Bojrab, MJ.; Monnet, E. Mecanismos de enfermedad en cirugía de pequeños animales. 3era ed. Ed Intermédica. Parte VIII: piel y tegumento. 2011. 6: 352-356.
3. Fossum, TW. 2007. Cirugía en pequeños animales. 3era ed. Ed Elsevier. 13: 103-125.
4. Pavletic, MM. 2010. Atlas de manejo de la herida y cirugía reconstructiva en pequeños animales. 3era ed. Ed inter-medica. 678 p.
5. Hultman CS, Carlson GW, Losken A, Jones G, Culbertson J, Mackay G. Utility of the omentum in the reconstruction of complex extraperitoneal wounds and defects: donor-site complications in 135 patients from 1975 to 2000. Ann Surg. 2002.;235:782-795.
6. Adams W, Ctercteko G, Bilous M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularity of compromised intestinal anastomoses. Dis Colon Rectum; 1992.35:731-738.
7. Esparza Iturbide, R; Hernández Baro, M.C.; Curiel Valdés, J.J.; Valanci Aroesty, S.; Robles Castillo, J.; Maydon Gonzalez, H.G.; Chousleb Kalach, A. El trasplante autólogo de células mesoteliales como acelerador y modificador de la cicatrización cutánea en ratas. *Cir plást iberolatinoam*. 2013. 39 (1): 47-51.

8. Di Paolo N, Sacchi G, Del Vecchio MT, Nicolai GA, Brardi S, Garosi G..State of the art on autologous mesothelial transplant in animals and humans. Int J Artif Organs.; 2007.30(6):456-459.
- 9.Mutsaers, S.E. Mesothelial cells their structure, function and role in serosal repair. Respirology.2002.7(3):171-191.
- 10.Witkowicz, J. Mesothelial cell transplantation. Pol Arch Med Wewn.; 2008.118(5):307-313.
- 11.Mutsaers, S., K. Birnie, S. Lansley, S. Herrick, C. Lim y C. Prale. 2015. Mesothelial cells in tissue repair and fibrosis. Frontiers In Pharmacology, 6. 12. Herrick, SE. y SE. Mutsaers. The potential of mesothelial cells in tissue engineering and regenerative medicine applications. Int J Artif Órganos.2007; 30 (6): 527-40.

ANEXOS

Figura 1-Abundante neovascularización y fibroblastos en corte histológico de piel de conejo a 7 días en herida tratada con células mesoteliales. Tinción H/E. Microfotografía 40x.

Figura 2-Corte histológico de biopsia de piel en la herida control, a los 7 días, se observan células inflamatorias en dermis, epitelio sin cambios Tinción H/E. Microfotografía 40x.

Figura 3-Microfotografía de herida tratada a los 14 días, se observa la reorganización de las fibras colágenas de la dermis Tinción H/E. Microfotografía 40x.

Figura 4-Microfotografía de herida control a los 14 días con abundante presencia de células inflamatorias. Tinción H/E. Microfotografía 40x.