

Queratinocitos cultivados y no cultivados en el tratamiento de las quemaduras

Dr. Jesús Antelmo Cuenca-Pardo,* Dr. Fernando Luján-Olivar,** Dr. Carlos de Jesús Álvarez-Díaz***

RESUMEN

La principal indicación del cultivo epitelial autógeno, es el cierre de las grandes heridas en los quemados extensos, donde no hay disponibilidad de sitios donadores de injertos. Para una mayor efectividad, es necesario que se apliquen en combinación con matriz dérmica y fibrina. Los aloinjertos de epidermis humana cultivada se emplean para cubrir las heridas después de la escisión de quemaduras de II grado profundo con la finalidad de acelerar y optimizar la epitelización. También se han utilizado en las zonas donadoras de injertos y para cubrir injertos en malla en expansión de 1:6, con buenos resultados. Las células epiteliales no cultivadas en suspensión se han empleado en el cierre de heridas por quemaduras superficiales y profundas, en heridas crónicas como las úlceras varicosas y en el tratamiento del vitiligo. Con los datos obtenidos no se puede determinar cuál es el verdadero valor de las terapias que utilizan las células epiteliales cultivadas o no cultivadas en el tratamiento de pacientes con quemaduras graves. Debido a la gran variación tanto en la calidad del diseño del estudio como a sus conclusiones y las muchas controversias en los resultados reportados, no se puede determinar la seguridad y eficacia de estos productos; los datos disponibles han puesto de relieve la importancia de estas terapias en el cierre de heridas del paciente quemado masivo y de heridas crónicas. Se requiere de estudios clínicos controlados para darle el justo valor.

Palabras clave: Queratinocitos cultivados, queratinocitos no cultivados, cultivo epitelial, células epiteliales no cultivadas, quemaduras.

SUMMARY

The main indication of autogenous epithelial culture is the closure of large wounds in extensive burns, where there is no availability of graft donor sites. It must be applied in combination with dermal matrix and fibrin for maximum effectiveness. Allografts epidermal cultures are used to cover wounds after excision of partial burns, in order to accelerate and optimize epithelialization. They have also been used in the graft donor areas and to cover mesh grafts 1:6 expanding, with good results. Uncultured epithelial cells in suspension have been used to close wounds due to superficial and deep burns, chronic wounds such as leg ulcers and the treatment of vitiligo. With the data obtained, we can not determine the true value of therapies using epithelial cells cultured or uncultured, in the treatment of patients with severe burns. Due to the wide variation in the quality of study design, and its conclusions and the many controversies in the results reported, the safety and efficacy of these products cannot be determined. The data available has emphasized the importance of these therapies in the closure of wounds of massive burnt patients and chronic wounds. Controlled clinical trials are needed to give it true value.

Key words: Keratinocytes cultured, keratinocytes uncultured, epithelial cells cultured, epithelial cells uncultured, burns.

FUNDAMENTOS GENERALES

El avance tecnológico en las diferentes áreas de la medicina, ha brindado una dramática mejoría en la sobrevida de pacientes con quemaduras extensas. La causa más frecuente de muerte en las quemaduras masivas sigue siendo la sepsis. La cirugía agresiva temprana con la remoción del tejido desvitalizado y el cierre de las heridas, son los factores más importantes que reducen el riesgo de infección y aumentan la posi-

* Jefe de Servicio de la Unidad de Quemados, Hospital de Traumatología de la Unidad Médica de Alta Especialidad «Dr. Victorio de la Fuente Narváez» del Distrito Federal. IMSS.

** Médico adscrito a la Unidad de Quemados del Hospital de Traumatología de la Unidad Médica de Alta Especialidad «Dr. Victorio de la Fuente Narváez» del Distrito Federal. IMSS.

*** Cirujano Plástico.

bilidad de sobrevivencia. La eliminación temprana del tejido desvitalizado no sólo elimina el sustrato donde potencialmente se produce la infección en el quemado, sino que además reduce la producción de mediadores químicos que disminuyen la respuesta inflamatoria sistémica y evita la profundización de las lesiones.¹⁻⁹ El uso de autoinjertos de piel constituye el tratamiento actual para suplir la pérdida cutánea; sin embargo, este recurso está limitado en pacientes extensamente quemados por falta de áreas donadoras. Debido a que el pronóstico de estos pacientes está relacionado con la prontitud de la cobertura cutánea, se han utilizado una gran variedad de sustitutos cutáneos temporales, como membranas amnióticas, piel de cadáver, piel porcina y bovina, y apósitos sintéticos y semisintéticos.¹⁻¹⁶ Para la cobertura definitiva se están utilizando células epiteliales (queratinocitos) cultivadas o no cultivadas, solas o en combinación con matriz dérmica.

Cultivo epitelial autógeno (queratinocitos autógenos cultivados)

Desde 1981 se ha empleado ampliamente el cultivo epitelial autógeno (CEA) para dar cobertura cutánea a pacientes extensamente quemados. Desde entonces existen reportes con resultados controvertidos; los principales inconvenientes son los costos elevados y la espera de tres semanas a partir de la toma de la muestra de piel del paciente quemado para poder disponer de ellos.^{8,17-19}

Estudios clínicos en pacientes con quemaduras masivas, han demostrado que el empleo de queratinocitos autógenos cultivados disminuye la mortalidad, el número de cirugías y la toma de injertos cutáneos; sin embargo, a largo plazo, las cicatrices son mayores a las producidas por la aplicación de autoinjertos cutáneos. Con esta técnica se logra el cierre de la herida hasta en un 76.4%, por lo que en la mayoría de los pacientes se requieren de 2 a 4 aplicaciones para el cierre total.²⁰⁻²⁴

El trasplante de células epiteliales cultivadas autógenas en suspensión reduce el tiempo necesario para el cultivo, pueden estar disponibles antes de dos semanas. Los preparados se pueden transportar y almacenar (congelados) hasta su aplicación, cuando la superficie de la herida se encuentre lista.²⁵ El cultivo celular en suspensión y su aplicación en aerosol facilita la distribución homogénea. Este recurso se ha utilizado en combinación con autoinjertos cutáneos en malla con expansión 1:6, con una más rápida y completa epitelización entre la malla; al valorar la cicatriz con la escala de Vancouver y comparar los resultados obtenidos con la aplicación de injertos cutáneos,

no hubo diferencia significativa a largo plazo.^{10,22} El procedimiento puede reducir en forma importante la necesidad de toma de injertos.⁸

Existen varios estudios con respecto a la eficacia de la fibrina; *in vitro*, favorece la fijación y clonación de los queratinocitos, crea un ambiente propicio para su proliferación y formación de colonias con un buen potencial de crecimiento.²⁷ En animales de investigación, la fibrina evita el escurrimiento de los queratinocitos, mantiene su densidad en forma homogénea y crea un ambiente propicio para su integración. Se observó que las heridas en cerdos tratadas con la aplicación de cultivo epitelial y fibrina, tuvo una integración de las células y en un solo tiempo se logró el cierre de la herida.²⁸ La suspensión de células cultivadas en un sellador de fibrina, hace que se adhieran con más facilidad a la herida, además de formar una plantilla excelente que favorece la integración y migración celular.^{29,30} El estudio clínico controlado en ratones demostró que la aplicación combinada de factor de crecimiento epitelial (EGF), queratinocitos cultivados y fibrina favorecen la regeneración de las células epiteliales con una buena definición de la laminina.³¹ Se han aplicado queratinocitos cultivados en suspensión, combinado con fibrina para una aplicación en aerosol,³² encontrando que la viabilidad celular no se vio afectada, pero sí hubo una reducción significativa en la actividad metabólica; con esta técnica se logró una densidad celular adecuada, se evitó el escurrimiento de la suspensión y se facilitó su aplicación.³³ La fibrina facilita la siembra y eficiencia de queratinocitos sobre una dermis acelular y es un factor vital en la liberación de 3T3, factor indispensable en el crecimiento y diferenciación celular; esto puede ser la base para el cultivo y la posibilidad de un trasplante total de piel (epidermis-dermis).³⁴

Las células epiteliales cultivadas colocadas sobre una matriz dérmica tienen una mejor adherencia e integración.^{22,29} Después de la escarectomía se aplica una matriz dérmica con una capa de silicón, lo que protege y cierra temporalmente la herida, evita la pérdida de líquidos, sirve como una barrera contra la invasión de gérmenes y da origen a un tejido dérmico, donde se pueden aplicar injertos delgados o cultivos epiteliales. Una vez que la matriz se integra y vasculariza, se puede aplicar con seguridad el cultivo epitelial.²² Esta estrategia se ha empleado con éxito en pacientes con quemaduras de espesor total en la cara y en pacientes con quemaduras masivas.^{22,29,35} Los resultados a largo plazo se caracterizan por formación de cicatrices, retracciones, pigmentación y formación de pliegues, similares a los obtenidos cuando las heridas son tratadas con autoinjertos cutáneos.²⁵

ALOINJERTOS DE EPIDERMIS HUMANA CULTIVADA

El trasplante alógeno de células, tejidos u órganos, requieren de un tratamiento para evitar la respuesta de rechazo. Los aloinjertos de epidermis humana cultivados implantados, tienen una respuesta antigénica muy baja y una vida muy corta, por lo que no es necesaria una terapia inmunosupresora que permita su integración y función a largo plazo.³⁶⁻³⁸

El cultivo de epidermis humana, se desarrolla a partir de una pequeña biopsia del prepucio de un recién nacido, fragmento que es radiado y en el que se ha determinado la ausencia de enfermedades infectocontagiosas. Las células germinales epiteliales se separan y colocan en un medio de cultivo con factores de crecimiento y antibióticos. En un periodo de tres semanas se obtienen grandes láminas, mismas que se colocan en transportadores y se preservan en congelación a temperaturas de -30 a -60 °C. La congelación del cultivo permite una viabilidad celular del 92%,³⁶⁻⁴¹ desde el momento de su preparación hasta su utilización.

Las células de los aloinjertos de epidermis humana cultivada, una vez aplicadas en el lecho de las heridas, tienen una vida muy corta y prontamente son desplazadas por los queratinocitos locales. La aplicación del cultivo cubre temporalmente las funciones de la piel y su acción a largo plazo; se explica por los factores de crecimiento que contienen, que estimulan a las células locales para la reparación y cierre de las heridas. Se ha demostrado que el cultivo de aloinjertos estimula la migración, mitosis, maduración y diferenciación de los queratinocitos autógenos de los bordes y de los elementos epiteliales remanentes en el lecho de las heridas; también actúan en los fibroblastos del huésped, mejorando la producción de colágena. Estas acciones favorecen la regeneración del epitelio y de la dermis, con una menor retracción cicatrizal.³⁶⁻⁴¹

Las quemaduras de segundo grado profundo tratadas en forma convencional, pueden sanar en un periodo de 21 días, con formación de cicatrices, y es frecuente que evolucionen con áreas que no sanan y que requieren la aplicación de autoinjertos cutáneos. Existen varias publicaciones respecto al tratamiento de las quemaduras de segundo grado profundo (espesor parcial) con escisión tangencial temprana del tejido dañado y la aplicación de aloinjertos de epidermis humana cultivada; los reportes indican que la epitelización se llevó a cabo del 80 al 100% del área afectada, en un promedio de 7 días. Las heridas residuales y por tanto las zonas que requieren de autoinjertos cutáneos, se reducen considerablemente. Los resultados obtenidos con esta estrategia, para algunos son simi-

lares en cuanto al grosor, vascularidad, pigmentación y flexibilidad, a los obtenidos con la aplicación de autoinjertos cutáneos. Otros reportan que los pacientes tratados con aloinjertos evolucionan con menos cicatrices y eritema y que resultados estéticos y funcionales son superiores.^{17,18,37,41-45}

Los pacientes con quemaduras masivas evolucionan con grandes áreas cruentas, las cuales no pueden ser cubiertas con injertos cutáneos debido a la poca disponibilidad de zonas donadoras. Se han empleado injertos en malla en expansiones de 1:6 cubiertos con aloinjertos de epidermis humana cultivada, logrando una epitelización entre la malla en seis días y se ha evitado la pérdida del autoinjerto. Con esta técnica se ha logrado la cobertura cutánea total y la supervivencia de pacientes con grandes quemaduras; además, la cubierta lograda presenta mínima retracción cicatrizal.^{42,43,46} En un estudio clínico controlado se aplicó un lisado de los aloinjertos cultivados sobre injertos en malla, obteniendo un resultado similar, el cual atribuyeron a la acción de los factores de crecimiento que contiene el cultivo.^{39,47,48}

Los aloinjertos de epidermis humana cultivada se han utilizado en estudios clínicos controlados en las zonas donadoras de injertos encontrando una epitelización a los 7 días; las zonas donadoras, al ser tratadas con aloinjertos evolucionan con menos eritema y menor cicatriz; el epitelio formado permite nuevamente la toma de otros autoinjertos cutáneos.^{42,44}

Células epiteliales no cultivadas en suspensión (queratinocitos no cultivados)

Las células epiteliales no cultivadas en suspensión se han utilizado en el tratamiento de las grandes heridas de los quemados y en el cierre de heridas crónicas; un pequeño fragmento de piel tomado con un dermatomo se procesa junto al paciente y en unos cuantos minutos está disponible para su aplicación en forma de aerosol, con lo que cubren grandes superficies. El verdadero valor de este procedimiento no se ha definido claramente.^{49,50}

En un estudio clínico controlado se realizó la medición de la capacitancia eléctrica, que es un método objetivo y reproducible, para valorar la maduración de tegumentos y se utiliza en forma rutinaria en los recién nacidos. Se encontró que la tasa de epitelización y la maduración de la epidermis son más rápidas para las heridas de espesor parcial tratadas con queratinocitos autógenos en suspensión.⁵¹

Se han realizado diferentes estudios en animales de investigación para determinar la eficacia de los queratinocitos no cultivados en suspensión. Se produjeron

heridas de espesor total en cerdos, mismas que fueron cubiertas con injertos en malla. Una suspensión celular de los queratinocitos se roció sobre la mitad de las heridas con una densidad de siembra de 2.8×10^3 cel/cm²; la otra mitad de la herida se cubrió sólo con un injerto en malla. Las heridas rociadas con la suspensión celular mostraron una epitelización de mejor calidad y mayor pigmentación en un menor tiempo; así también, se encontró en los estudios histológicos mayor cantidad de melanocitos. Los autores concluyeron que las células epiteliales no cultivadas se podrían utilizar en el manejo de las heridas por quemaduras, incluyendo los problemas de pigmentación.^{52,53} Otros investigadores realizaron un estudio controlado en cerdos, en los que les produjeron heridas de espesor total. Encontraron que con la aplicación de fibrina, una matriz dérmica y posteriormente cubiertos con queratinocitos en suspensión, presentaron una mejor integración de las células y un mejor resultado en el cierre de las heridas.⁵⁴

Se han implementado diferentes estrategias para aumentar la efectividad de las células epiteliales no cultivadas. El uso de un dispositivo especial permite que las células epiteliales en suspensión puedan ser aplicadas en aerosol. El dispositivo no afecta la viabilidad celular, facilita aplicarlas uniformemente con facilidad y mantiene la confluencia.⁵⁵ El uso de fibrina en el lecho de la herida, o como vehículo, forma una matriz donde se adhieren las células epiteliales, mantienen su confluencia y densidad y mejoran la epitelización de las heridas.^{50,54,56} En combinación de una matriz dérmica, es una opción prometedora para la reconstitución completa del tejido dañado.⁵⁰

Las células epiteliales no cultivadas en suspensión se han utilizado en heridas crónicas. En un estudio clínico controlado, se formaron dos grupos de pacientes con úlceras crónicas en las piernas; el grupo I fue tratado con fibrina y queratinocitos y el grupo II sólo con fibrina; los pacientes del grupo I sanaron completamente entre 14 y 21 días, mientras que los pacientes del grupo II no sanaron.⁵⁶

Se ha reportado que las células epiteliales no cultivadas en suspensión, además de contener queratinocitos, tienen cierta cantidad de melanocitos, por lo que se pueden utilizar para la epitelización de las heridas por quemaduras y para el tratamiento de los problemas de hipopigmentación, secuela frecuente después de una quemadura.^{52,53} Se realizó un ensayo clínico controlado para determinar si las células epiteliales no cultivadas en suspensión podrían disminuir el tiempo de epitelización y el restablecimiento de la pigmentación en pacientes con vitíligo a los que se les había realizado una escisión de sus lesiones. Este

estudio demostró que las suspensiones de las células epiteliales no cultivadas no disminuyeron el tiempo de epitelización de las heridas de espesor parcial, en comparación con los controles. También demostró que la calidad y duración de la pigmentación son imprevisibles y decepcionantes. Alguna pigmentación se registró en las zonas tratadas con placebo, lo que indica un efecto por la ablación epidérmica en estos pacientes. Estos hallazgos han obligado a una revisión en la utilización de estas técnicas en el tratamiento de heridas por quemaduras.⁵⁷ Asimismo, se reportó la experiencia obtenida en una serie de casos de pacientes quemados tratados con células epiteliales en suspensión. A su ingreso se tomó una biopsia que se procesó en un laboratorio externo. Dos días después se pudo disponer de una suspensión que contenía queratinocitos autógenos no cultivados; después de la escisión de la quemadura se aplicó la suspensión mediante un sistema de aerosol. Todas las heridas curaron rápidamente y prácticamente sin signos de cicatrización hipertrófica; los pacientes fueron evaluados en un periodo de 6 meses.⁴⁹

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Existe una gran cantidad de artículos publicados respecto a los queratinocitos o células epiteliales cultivadas y no cultivadas. La evidencia de la mayoría de las publicaciones corresponde a un nivel IV (series de casos), algunos a un nivel III (casos y controles) y son muy pocos los niveles II y I (ensayos clínicos controlados aleatorios o no aleatorios), y no se encuentran guías de práctica médica o metaanálisis. Existen varios estudios de investigación preclínica, realizados principalmente en cerdos. Con los datos obtenidos no se puede determinar cuál es el verdadero valor de las terapias que utilizan las células epiteliales cultivadas o no cultivadas en el tratamiento de pacientes con quemaduras graves. Debido a la gran variación tanto en la calidad del diseño del estudio, como a sus conclusiones y las muchas controversias en los resultados reportados, no se puede determinar la seguridad y eficacia de estos productos. Tampoco se puede tener una buena recomendación y una contestación con juicio crítico a las dudas que surgen; a lo sumo, la revisión de la literatura ha puesto de relieve la importancia de estas terapias en el cierre de las grandes heridas del paciente quemado grave y de heridas crónicas. Se requiere de estudios clínicos controlados para darle el justo valor.²¹

El cultivo epitelial autógeno se utiliza principalmente en el cierre de heridas de pacientes con quemaduras masivas (tercer grado), en forma de láminas o

en suspensión, sólo o en combinación de autoinjertos cutáneos en malla o en estampilla (técnica de Meek). Su principal indicación es el cierre de las heridas en los quemados extensos, donde no hay disponibilidad de sitios donadores de injertos. Para una mayor efectividad es necesario disminuir el tiempo del cultivo y el costo, que se aplique junto con autoinjertos en malla, se asocien a la aplicación de fibrina que facilite su adhesión y mantenga la confluencia y densidad celular, y se haga en forma combinada con terapias previas que reestructuren la dermis a través de matrices dérmicas que interactúen en la regeneración de los tejidos epiteliales y dérmicos.

Los aloinjertos de epidermis humana cultivada se emplean para cubrir las heridas después de la escisión temprana de quemaduras de segundo grado superficial y profundo, con la finalidad de acelerar y optimizar la epitelización. Otro uso ha sido en las zonas donadoras de injertos, obteniendo una más pronta y mejor calidad de epitelización, con lo que se puede en un corto tiempo utilizar la misma zona donadora en varias ocasiones. También se ha empleado para cubrir injertos en malla en expansión de 1:6, logrando una epitelización entre la malla en 6 días y se ha evitado la pérdida del injerto; ha sido de gran utilidad en el cierre de las heridas de los pacientes con quemaduras masivas. Es de esperar que los costos deban bajar y aumentar la eficacia del producto; asimismo, deben utilizarse en combinación de otros productos, como las matrices dérmicas y las células epiteliales no cultivadas en suspensión.

Las células epiteliales no cultivadas en suspensión se han empleado en el cierre de heridas por quemaduras superficiales y profundas, en heridas crónicas como las úlceras varicosas y en la corrección del vitíligo. Es una tecnología novedosa y prometedora; sin embargo, los resultados reportados son escasos y controvertidos, por lo que hacen falta estudios clínicos controlados para determinar su eficacia y seguridad. Los estudios actuales no mencionan la cantidad de queratinocitos y melanocitos que logran sobrevivir después del proceso, así como la densidad celular que se obtiene en su aplicación y cantidad de células por cm² mínima que se requiere para regenerar el epitelio.

El principal factor que limita el uso del cultivo epitelial autógeno (queratinocitos), es el tiempo necesario para el cultivo: hay que esperar de 12 a 21 días,^{17-25,58} lo que ocasiona un retraso importante en el tratamiento, con la consecuente desnutrición del paciente e infección de las heridas, factores que ponen en peligro la vida del paciente. Para evitar estas complicaciones es necesaria la escisión temprana de

la quemadura y la cobertura temporal con un apósito biológico o sintético que proteja las heridas y evite la infección, hasta tener disponible el cultivo. Los aloinjertos de epidermis humana cultivada y las células epiteliales no cultivadas en suspensión están disponibles, por ello pueden emplearse en forma inmediata o en el momento en que se necesiten.

Otro factor limitante para el uso del cultivo epitelial autógeno es el costo del producto, el cual es elevado y no está disponible para todos los pacientes. Se calcula un costo aproximado de \$1,000 dólares por cada 1% de superficie corporal quemada.²⁵ Cada paciente requiere de dos a tres aplicaciones para el cierre total de sus heridas; cada aplicación requiere de un nuevo cultivo, por lo que todo el proceso resulta ser muy caro. Aunque el cultivo epitelial es muy caro, la supervivencia que se logra al utilizarlo en el tratamiento de pacientes con quemaduras masivas es muy alta, esto lo vuelve una excelente alternativa para cubrir las heridas cuando los sitios donantes de autoinjertos se han agotado.¹⁷⁻²⁵ El tratamiento con aloinjertos de epidermis humana cultivada y las células epiteliales no cultivadas en suspensión, son más económicas. Los aloinjertos disminuyen el número de cirugías, estancia hospitalaria y complicaciones, por lo que reduce también los costos totales.

El cultivo epitelial autógeno, para su mejor integración, se debe aplicar en una herida sin colonización de bacterias y bien vascularizadas.^{22,30} Se encontró que un gran número de células muere durante el trasplante, pero este efecto disminuye si las células pueden proliferar en un medio óptimo.²⁶ Las heridas del paciente quemado no son un medio óptimo para la supervivencia de las células cultivadas. Cuando el cultivo se encuentra listo, hay que utilizarlo inmediatamente, aunque el lecho de la herida no se encuentre en condiciones perfectas, ya que en dos o tres días los queratinocitos pierden su capacidad de adherencia.⁵⁸ Estas condiciones dificultan la integración celular y el cierre de la herida y se puede requerir de varias aplicaciones para el cierre total de la herida.^{22,23}

Los aloinjertos de epidermis humana cultivada se pueden preservar en congelación durante varios meses, con una viabilidad celular hasta del 92% y estar disponibles en el momento que se les necesite. La escisión temprana de la quemadura retira el tejido no viable y deja tejido sano, bien vascularizado y libre de colonización bacteriana. Con frecuencia se puede conservar una buena cantidad de matriz dérmica del huésped, por lo que el cultivo se aplica en una matriz limpia y bien vascularizada que interactúa con las células del cultivo, favoreciendo la regeneración tisular epitelial y dérmica, mejorando la calidad de piel

neoformada. Las células epiteliales no cultivadas en suspensión pueden tener una acción similar.³⁷⁻⁴¹

Los injertos en malla en expansión 1:6 se han cubierto con cultivo epitelial autógeno o con aloinjertos de epidermis humana cultivados, y en ambos casos se ha obtenido una más rápida y completa epitelización entre la malla.^{10,22,42,43,46} Son de gran utilidad en el cierre de heridas de pacientes con quemaduras masivas, ya que prontamente se cubren las mismas y reducen la toma de injertos cutáneos; la cicatriz resultante es similar a la obtenida cuando la herida se cierra con la aplicación de un autoinjerto cutáneo en forma de lámina.^{8,42,43,46} Las células epiteliales no cultivadas se han utilizado en forma experimental en cerdos con heridas que fueron cubiertas con injertos en malla en expansión 1:3, encontrando una más rápida epitelización,⁵²⁻⁵⁴ por lo que podrían utilizarse también en humanos con injertos en malla.

Con el uso combinado de queratinocitos cultivados, matriz dérmica cultivada o semisintética y fibrina, se han logrado obtener los mejores resultados funcionales y estéticos.^{22,27-30,35,59}

Consideramos que la forma óptima de utilizar las células epiteliales no cultivadas en suspensión en el cierre de heridas de espesor total, como en el caso de las quemaduras de tercer grado, sería aplicarlas en una densidad adecuada (probablemente mayor a la recomendada por la casa comercial), sobre una matriz dérmica limpia y vascularizada, fijadas con fibrina y cubiertas con aloinjertos de epidermis humana cultivados. En forma inmediata a la resección de la escara, la herida resultante debería cubrirse con una matriz dérmica cultivada o biológica (Alloderm® u Oasis®), o semisintética (Integra®), que se integraría al huésped y formaría una neodermis donde fácilmente se adhiran las células epiteliales y se favorezca la acción de los factores de crecimiento. Se ha mencionado que la capa basal de la epidermis influye en forma importante en la dermis, y que los fibroblastos producen una dermis de mejor calidad que a la vez ayudan a una mejor epitelización y evitan la retracción cicatrizal.⁶⁰ La aplicación de fibrina evitaría el escurrimiento del líquido, facilitaría su adherencia y confluencia, manteniendo una densidad homogénea; además estimularía la producción de factores de crecimiento como el 3T3, indispensable para la diferenciación y maduración de los queratinocitos. La cobertura con aloinjertos de epidermis humana cultivada, protegerían las células implantadas, mantendrían la humedad y la tensión superficial, que facilitaría la migración celular y aportarían factores específicos para estimular y activar a los queratinocitos, para iniciar la mitosis. De esta forma, la clonación celular se llevaría en vivo

y no en el laboratorio. Esta terapia combinada resultaría menos costosa que el cultivo epitelial autógeno. Una alternativa sería enviar una biopsia de piel al laboratorio (con células epiteliales no activas), para que las transformaran en queratinocitos activados en suspensión y pudieran aplicarse dos o tres después en condiciones similares a las antes mencionadas, con la ventaja de que el implante se hace con células activadas que tendrían una mayor acción regeneradora. Hemos realizado un protocolo de investigación con los fundamentos teóricos expuestos en este párrafo y esperamos la aprobación y recomendaciones dictadas por el Comité de Investigación y Ética del hospital donde trabajamos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Salisbury RE. Thermal Burns. In: McCarthy JP. Plastic Surgery. Philadelphia: WB Saunders Co 1990: pp. 787-984.
2. Still J, Law E. Primary excision of the burn wound. *Clin Plast Surg* 2000; 27: 23-47.
3. Rangel-Gaspar H. Síndrome compresivo fasciocutáneo en quemaduras. *Cir Plast* 2003; 13: 25-29.
4. Bendlin A. Tratamiento inicial de quemaduras graves. En: Bendlin A, Linares HA, Benaim F. Tratado de Quemaduras. México: Interamericana 1993: pp. 149-160.
5. Arturson G. Cambios fisiopatológicos. En: Bendlin A, Linares HA, Benaim F. Tratado de Quemaduras. México: Interamericana 1993: pp. 127-144.
6. Nguyen TT, Gilpin DA, Meyer NA, Herndon DN. Current treatment burned severely patients. *Ann Surg* 1996; 225: 14-25.
7. Cuenca-Pardo J, Álvarez-Díaz CJ. Costo-Beneficio de la cirugía precoz del paciente quemado comparado con cirugía tardía. *Cir Plast* 2000; 10: 5-7.
8. Dorai AA, Lim CK, Fareha AC, Halim AS. Cultured epidermal autografts in combination with MEEK Micrografting technique in the treatment of major burn injuries. *Med J Malaysia* 2008; 63 Suppl A: 44.
9. Lumenta DB, Kamolz LP, Frey M. Adult burn patients with more than 60% TBSA involved-Meek and other techniques to overcome restricted skin harvest availability--the Viennese Concept. *J Burn Care Res* 2009; 30: 231-42.
10. T, Boyce ST, Kagan RJ, Yakuboff KP, Meyer NA, Rieman MT, Greenhalgh DG, Warden GD. Cultured skin substitutes reduce donor skin harvesting for closure of excised, full-thickness. *Burns Ann Surg* 2002; 235:269-279
11. Benmeir P, Sagi A. An analysis of mortality in patients with burns covering 40 per cent BSA or more: a retrospective review covering 24 years (1964-88). *Burns* 1991; 17: 402-5.
12. Germann G, Barthold U. The impact of risk factors and pre-existing conditions on the mortality of burn patients and the precision of predictive admission-scoring systems. *Burns* 1997; 23: 195-203.
13. Jeffrey RS, Byron DP. Recent outcomes in the treatment of burn injury in the United States: A report from the American Burn Association Patient Registry. *J Burn Care Rehabil* 1995; 16: 219-32.
14. Reig AC, Tejerina PB. Massive burns: a study of epidemiology and mortality. *Burns* 1994; 20: 51-54.
15. Quinby CW, Hoover GH. Clinical trials of amniotic membranes in burn wound care. *Plast Reconstr Surg* 1982; 70: 711-7.

16. Sawhney CP. Amniotic membrane as a biological dressing in the management of burns. *Burns* 1989; 15: 339-42.
17. De Luca M, Albanese E, Bondanza S. Multicenter experiences in the treatment of burns with autologous and allogeneic cultured epithelium fresh or preserved in a frozen state. *Burns* 1989; 15: 303.
18. Nunez-Gutierrez H, Castro-Muñoz Ledo F, Kuri-Harcuch W. Combined use of allograft and autograft epidermal cultures in therapy of burns. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98: 929-939.
19. Wood FM, Kolybaba ML, Allen P. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn injuries: a critical review of the literature. *Burns* 2006; 32: 395-401.
20. Munster AM. Cultured skin for massive burns. A prospective controlled trial. *Ann Surg* 1996; 224: 372-377.
21. Sood R, Balledux J, Koumanis DJ, Mir HS, Chaudhari S, Roggy D, Zieger M, Cohen A, Coleman JJ. Coverage of large pediatric wounds with cultured epithelial autografts in congenital nevi and burns: results and technique. *J Burn Care Res* 2009; 30: 576-86.
22. Wissner D, Steffes J. Skin replacement with a collagen based dermal substitute, autologous keratinocytes and fibroblasts in burn trauma. *Burns* 2003; 29: 375-80.
23. Chalumeau M, Saulnier JP, Ainaud P, Lebever H, Stephanazzi J, Lecoadou A, Carsin H. Initial general management and surgery of six extensively burned children treated with cultured epidermal autografts. *J Ped Surg* 1999; 34(4): 602-5.
24. Loss M, Wedler V, Künzi W, Meuli-Simmen C, Meyer VE. Artificial skin, split-thickness autograft and cultured autologous keratinocytes combined to treat a severe burn injury of 93% of TBSA. *Burns* 2000; 26: 644-52.
25. Boyce ST, Goretsky MJ, Greenhalgh DG, Kagan RJ, Rieman MT, Warden GD. Comparative assessment of cultured skin substitutes and native skin autograft for treatment of full-thickness burns. *Ann Surg* 1995; 222: 743-752.
26. Fredriksson C, Kratz G, Huss F. Transplantation of cultured human keratinocytes in single cell suspension: a comparative *in vitro* study of different application techniques. *Burns* 2008; 34: 212-9.
27. Chua AW, Ma DR, Song IC, Phan TT, Lee ST, Song C. *In vitro* evaluation of fibrin mat and Tegaderm wound dressing for the delivery of keratinocytes-implications of their use to treat burns. *Burns* 2008; 34: 175-80.
28. Bannasch H, Unterberg T, Föhn M, Weyand B, Horch RE, Stark GB. Cultured keratinocytes in fibrin with decellularised dermis close porcine full-thickness wounds in a single step. *Burns* 2008; 34: 1015-1021.
29. Kopp J, Jeschke MG, Bach AD, Kneser U, Horch RE. Applied tissue engineering in the closure of severe burns and chronic wounds using cultured human autologous keratinocytes in a natural fibrin matrix. *Cell Tissue Bank* 2004; 5: 89-96.
30. Currie LJ, Martin R, Sharpe JR, James SE. A comparison of keratinocyte cell sprays with and without fibrin glue. *Burns* 2003; 29(7): 677-85.
31. Gwak SJ, Kim SS, Sung K, Han J, Choi CY, Kim BS. Synergistic effect of keratinocyte transplantation and epidermal growth factor delivery on epidermal regeneration. *Cell Transplant* 2005; 14: 809-17.
32. Harkin DG, Dawson RA, Upton Z. Optimized delivery of skin keratinocytes by aerosolization and suspension in fibrin tissue adhesive. *Wound Repair Regen* 2006; 14: 354-363.
33. Hafemann B, Hettich R, Ensslen S, Kowol B, Zühlke A, Ebert R, Königs M, Kirkpatrick CJ. Treatment of skin defects using suspensions of *in vitro* cultured keratinocytes. *Burns* 1994; 20: 168-72.
34. Lam PK, Chan ES, Yen RS, Lau HC, King WW. A new system for the cultivation of keratinocytes on acellular human dermis with the use of fibrin glue and 3T3 feeder cells. *J Burn Care Rehabil* 2000; 21: 1-4.
35. Marazzi M, De Angelis A, Ravizza A, Ordanini MN, Falcone L, Chiaratti A, Crovato F, Calò D, Veronese S, Rapisarda V. Successful management of deep facial burns in a patient with extensive third-degree burns: the role of nanocrystalline silver dressing in facilitating resurfacing. *Int Wound J* 2007; 4: 8-14.
36. Leon-Villapalos J, Eldardiri M, Dziewulski P. The use of human deceased donor skin allograft in burn care. *Cell Tissue Bank* 2010; 11(1): 99-104. Epub 2010 Jan 15.
37. Madden MR, LaBruna AA, Hajjar DP, Staiano-Coico L. Transplantation of cryopreserved cultured epidermal allografts. *J Trauma* 1996; 40(5): 743-50.
38. Fabre JW. Epidermal allografts. *Immunol Lett* 1991; 29(1-2): 161-5.
39. Duinslaeger L, Verbeken G, Reper P, Delaey B, Vanhale S, Vanderkelen A. Lyophilized keratinocyte cell lysates contain multiple mitogenic activities and stimulate closure of meshed skin autograft-covered burn wounds with efficiency similar to that of fresh allogeneic keratinocyte cultures. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98(1): 110-7.
40. Gilen V, Faure M, Mauduit G, Thivolet J. Progressive replacement of human cultured epithelial allograft by recipient cell as evidence by HLA Class and antigen expression. *Dermatological* 1987; 175: 166-170.
41. Oliver AM, Kaawach W, Mithoff EW, Watt A, Abramovich DR, Rayner CR. The differentiation and proliferation of newly formed epidermis on wounds treated with cultured epithelial allografts. *Br J Dermatol* 1991; 125(2): 147-54.
42. Sosa-Serrano AF, Álvarez-Díaz CJ, Cuenca-Pardo J. Tratamiento de quemaduras de espesor total mediante autoinjertos mallados cubiertos con aloinjertos criopreservados de epidermis humana cultivada *in vitro*. Reporte de un caso. *Cir Plast* 1999; 9: 126-29.
43. Cuenca-Pardo J, Álvarez-Díaz CJ. Tratamiento de quemaduras masivas con autoinjertos mallados y aloinjertos de epidermis cultivada *in vitro*. Reporte de un caso. *Cir Plast* 1999; 9: 78-82.
44. Yanaga H, Udoh Y, Yamauchi T, Yamamoto M, Kiyokawa K, Inoue Y, Tai Y. Cryopreserved cultured epidermal allografts achieved early closure of wounds and reduced scar formation in deep partial-thickness burn wounds and split-thickness skin donor sites of pediatric patients. *Burns* 2001; 27: 689-698.
45. Rivas Torres M, Amato D, Arambula-Alvarez H, Kuri-Harcuch W. Controlled clinical study of skin donor sites and deep partial-thickness burns treated with cultured epidermal allograft. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98: 279-287.
46. Alvarez-Diaz C, Cuenca-Pardo J. Controlled clinical study of deep partial-thickness burns treated with frozen cultured human allogeneic epidermal sheets. *J Burn Care Rehabil* 2000; 21: 291-299.
47. Cuenca-Pardo J, Álvarez-Díaz C. Estudio clínico controlado de quemaduras de espesor total, tratadas con autoinjertos en malla y cubiertos con aloinjertos de epidermis humana cultivada. *Cir Plast* 1999; 9: 126-129.
48. Braye F, Pascal P, Bertin-Maghit M, Colpart JJ, Tissot E, Dammour O. Advantages of using a bank of allogenic keratinocytes for the rapid coverage of extensive and deep second-degree burns. *Med Biol Eng Comput* 2000; 38(2): 248-52.
49. Zweifel CJ, Contaldo C, Köhler C, Jandali A, Künzi W, Giovannoli P. Initial experiences using non-cultured autologous keratinocyte suspension for burn wound closure. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008; 61: 1-4.
50. Kopp J, Jeschke MG, Bach AD, Kneser U, Horch RE. Applied tissue engineering in the closure of severe burns and chronic wounds using cultured human autologous keratinocytes in a natural fibrin matrix. *Cell Tissue Bank* 2004; 5: 89-96.

51. Magnusson M, Papini RP, Rea SM, Reed CC, Wood FM. Cultured autologous keratinocytes in suspension accelerates epithelial maturation in an *in vivo* wound model as measured by surface electrical capacitance. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119: 495-9.
52. Navarro FA, Stoner ML, Park CS, Huertas JC, Lee HB, Wood FM, Orgill DP. Sprayed keratinocyte suspensions accelerate epidermal coverage in a porcine microwound model. *Burn Care Rehabil* 2000; 21: 513-518.
53. Navarro FA, Stoner ML, Lee HB, Park CS, Huertas JC, Wood FM, Orgill DP. Malanocytes repopulation in full-thickness wounds using a cell spray apparatus. *J Burn Care Rehabil* 2001; 22: 41-46.
54. Melendez MM, R Martinez RR, Dagum AB, McClain SA, Simon M, Sobanko J, Zimmerman T, Wetterau M, Muller D, Xu X, Singer AJ, Arora B. Porcine wound healing in full-thickness skin defects using Integra™ with and without fibrin glue with keratinocytes. *Can J Plast Surg* 2008; 16(3): 147-152.
55. Fraulin FGO, Bahoric A, Harrop AR, Hiruki T, Clark HM. Autotransplantation of epithelial cells in the pig via an aerosol vehicle. *J Burn Care Rehabil* 1998; 19: 337-345.
56. Hunyadi J, Farkas B, Berteney C, Olah J, Dobozy A. Keratinocytes grafting: a new means for transplantation for full thickness wound. *J Dermatol Surg Oncol* 1988; 14: 75-78.
57. Back C, Dearman B, Li A, Neild T, Greenwood JE. Noncultured keratinocyte/melanocyte cosuspension: effect on reepithelialization and repigmentation--a randomized, placebo-controlled study. *J Burn Care Res* 2009; 30(3): 408-16.
58. Hernon CA, Dawson RA, Freedlander E, Short R, Haddow DB, Brotherston M, MacNeil S. Clinical experience using cultured epithelial autografts leads to an alternative methodology for transferring skin cells from the laboratory to the patient. *Regen Med* 2006; 1: 809-821.
59. Atiyeh BS, Costagliola M. Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later. *Burns* 2007; 33: 405-13.
60. Wood FM, Stoner M. Implication of basement membrane development on the underlying scar in partial-thickness burns. *Burns* 1996; 22: 459-462.

Dirección para correspondencia:

Dr. Jesús Antelmo Cuenca Pardo
Antonio Solá Núm. 51 Colonia Condesa
06400 México, D.F.
Correo electrónico: Jcuenca@aol.com