



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



Efectos de la solución de súper-oxidación (Microdacyn®) en la angiogénesis del tejido de granulación

Super-oxidation solution effects (Microdacyn®) in angiogenesis of granulation tissue

Dr. Lenin Leopoldo Enríquez Domínguez,* Dr. Omar Federico López Lugo,**
 Dra. Ivette Miranda Maldonado,*** Dr. Sergio Armando Pérez Porras,****
 Dr. Med. Mauricio Manuel García Pérez,***** Dr. Med. Yanko Castro Govea,*****
 Dr. MCM Gabriel Ángel Mecott Rivera*****

Palabras clave:

Granulación,
 inflamación, biopsia,
 herida.

Key words:

Granulation,
 inflammation, biopsy,
 wound.

RESUMEN

Las soluciones de superoxidación son de uso común en la curación de heridas; sin embargo, se desconocen científicamente los efectos de los mismos en la angiogénesis del tejido de granulación. Utilizamos seis perros de la raza Mongrel, a los que, bajo sedación y anestesia local, realizamos seis heridas de 6 x 4 cm en el dorso de cada uno y los dividimos en dos grupos: grupo control (con solución fisiológica) y grupo experimental (con Microdacyn®). Las curaciones las realizó una sola persona de manera cegada cada 72 horas por tres semanas. Tomamos biopsias en sacabocado los días 1, 6, 14 y 22, para identificar la densidad vascular e inflamación, mediante tinción con hematoxilina y eosina. Para el análisis estadístico utilizamos el programa SPSS versión 20.0 (las variables categóricas se analizaron mediante la prueba χ^2). En total, fueron 144 biopsias: 72 en cada grupo. En cantidad de vasos no encontramos diferencias significativas entre ambos grupos en las semanas 0, 1, 2 y 3, con valores de p de 0.710, 0.531, 0.362 y 0.487, respectivamente. En cantidad de inflamación no encontramos diferencias significativas entre ambos grupos en las semanas 0, 1 y 3, con valores de p de 0.146, 0.717 y 0.591, respectivamente, mientras que en la semana dos hubo diferencia significativa, con p = 0.006. Concluimos que en la angiogénesis entre ambos grupos no encontramos diferencia significativa. El Microdacyn® no tiene efecto de neoformación vascular del tejido de granulación comparado con la solución fisiológica.

ABSTRACT

Super-oxidation solutions are commonly used in wound dressing; however, the effects of these on the angiogenesis of granulation tissue are scientifically unknown. We used six Mongrel dogs, to which under sedation and local anesthesia we inflicted six wounds of 6 x 4 cm on the back of each one and divided them into two groups: a control group (treated with physiological solution) and an experimental group (treated with Microdacyn®). Cures were performed by a single person in a blinded manner every 72 hours for three weeks. We took punch biopsies on days 1, 6, 14 and 22, to identify vascular density and inflammation, by staining with hematoxylin and eosin. For the statistical analysis we used the SPSS program version 20.0 (the categorical variables were analyzed using the χ^2 test). In total there were 144 biopsies: 72 in each group. In the number of vessels, we did not find any significant differences between both groups in weeks 0, 1, 2 and 3, with p values of 0.710, 0.531, 0.362 and 0.487, respectively. In the amount of inflammation, we found no significant differences between both groups at weeks 0, 1 and 3, with p values of 0.146, 0.717 and 0.591, respectively, while in week two there was a significant difference, with p = 0.006. We conclude that in the angiogenesis between both groups we did not find a significant difference. Microdacyn® has no effect of vascular neoformation of the granulation tissue compared with the physiological solution.

* Residente de segundo año de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva. Hospital Universitario de Nuevo León «Dr. José Eleuterio González».

** Cirujano Plástico Certificado. Práctica privada en Mexicali, Baja California.

*** Profesor Titular del Curso de Patología y Citopatología. Hospital Universitario de Nuevo León «Dr. José Eleuterio González».

**** Profesor Titular del Curso de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva. Hospital Universitario de Nuevo León «Dr. José Eleuterio González».

***** Jefe de Servicio del Curso de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva. Hospital Universitario de Nuevo León «Dr. José Eleuterio González».

INTRODUCCIÓN

El proceso de cicatrización es complejo y requiere de la colaboración de diferentes tejidos y líneas celulares. Las lesiones inician una cascada de eventos morfológicos y fisiopatológicos que incluyen el proceso de inflama-

ción, proliferación y remodelación de tejidos.¹ El tejido de granulación proporciona un medio idóneo para la angiogénesis, movilización y proliferación de fibroblastos y sirve de andamio para la migración de las células epidérmicas.^{2,3}

Se han utilizado muchos medicamentos, como la sulfadiazina, iodopovidona, soluciones



***** Coordinador de Enseñanza del Curso de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva. Hospital Universitario de Nuevo León «Dr. José Eleuterio González».

***** Coordinador de Investigación del Curso de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva. Hospital Universitario de Nuevo León «Dr. José Eleuterio González».

Los autores de este artículo no tienen conflicto de intereses que declarar.

Recibido:
20 septiembre 2017
Aceptado para publicar:
18 octubre 2017

con peróxido de hidrógeno y ungüentos de antibiótico para tratar las heridas; sin embargo, ninguno ha reportado eficacia en la cicatrización de las heridas.³ Diversos factores disminuyen la formación de tejido de granulación, como la infección, colonización bacteriana, sustancias irritantes, insuficiente irrigación y tejido necrótico en la herida.^{4,5}

La angiogénesis consiste en la formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos preexistentes.^{6,7} Se asocia con la producción de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que promueve la neovascularización al estimular la proliferación de células endoteliales⁸ y se puede evaluar por medio de microscopia.⁶ Se ha evaluado la angiogénesis en animales en diferentes estudios con tinciones con hematoxilina-eosina.⁹⁻¹³

Las soluciones de superoxidación son procesadas mediante electrólisis, formando especies reactivas de cloro y oxígeno. Estas especies reactivas pueden dañar potencialmente los ácidos nucleicos, proteínas y lípidos.⁴ Las soluciones de superoxidación a pH neutro (Microdacyn®) se utilizan en productos para el cuidado de heridas en varios países.⁴ El Microdacyn® no induce sensibilización o irritación en la piel en estudios en animales; sin embargo, es preocupante el potencial daño oxidativo a las células humanas.⁴

Debido a que en nuestro medio se utilizan de manera rutinaria las soluciones de superoxidación en el manejo de heridas y actualmente no hay estudios que muestren los efectos de dichas soluciones en la angiogénesis del tejido de granulación de las heridas, el objetivo de nuestro estudio es demostrar los efectos de la solución de superoxidación (Microdacyn®) en la neoformación vascular en el tejido de granulación.

MATERIAL Y MÉTODO

Realizamos un estudio experimental, aleatorizado, comparativo, prospectivo, doble ciego, que se llevó a cabo en las instalaciones del bioterio del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en el periodo de tiempo del 10 de junio de 2014 al 26 de mayo de 2015. Mediante muestreo no probabilístico por conveniencia incluimos perros de la raza Mongrel de uno a tres años de edad, con peso de 20 a 30 kg. Excluimos a perros con enfermedad clínica y eliminamos a cualquier

perro que, por enfermedad o muerte, no pudiera concluir el estudio. Los perros fueron tratados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para las especificaciones técnicas en la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (NOM 06-ZOO-999). Los procedimientos quirúrgicos y curaciones se realizaron bajo sedación (ketamina 5 mg/kg y midazolam 0.2 mg/kg) y anestesia local (lidocaína 1%). Se produjeron seis áreas cruentas en el dorso de cada perro de 6 x 4 cm (Figura 1), incluyendo piel y tejido celular subcutáneo y se asignó un número a cada herida (Figura 2). Se tomó biopsia en sacabocado en la fascia muscular mediante dispositivo punch de 5 mm de la marca Miltex® (Figura 3). Dividimos las heridas en dos grupos: al grupo 1 (control) se hicieron curaciones con solución fisiológica y al grupo 2 (experimental) con solución de superoxidación (Microdacyn®). Después de cada curación cubrimos las heridas con parche hidrocoloide. El investigador principal (cegado) tenía la solución de limpieza en seis botes idénticos numerados, aleatorizados por un segundo investigador (Figura 4).

Las curaciones se realizaron a las 24 horas después de las heridas y se siguió cada 72 horas

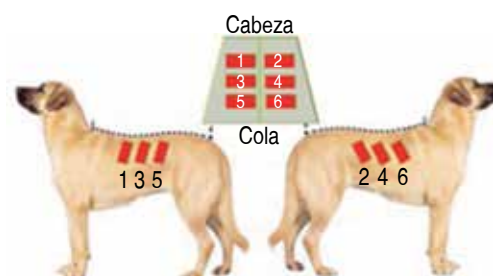


Figura 1. Sitio de heridas en el dorso del modelo animal.

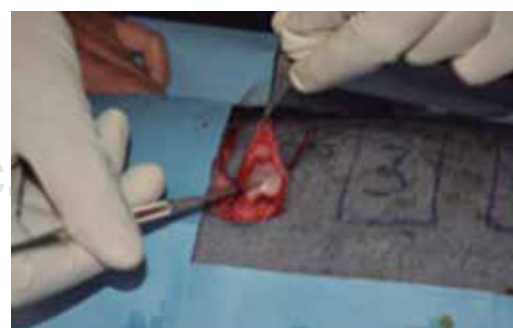


Figura 2. Realización de heridas en el dorso del modelo animal.

hasta cumplir tres semanas. Se tomaron cuatro biopsias a cada herida los días uno, seis, 14 y 22 de realizadas las heridas. El análisis de las biopsias se hizo en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario UANL; el patólogo recibió las muestras de manera cegada para identificar densidad vascular e inflamación. Para densidad vascular mediante tinción de hematoxilina y eosina, la presencia o ausencia de tejido de granulación; en caso de existir, se clasificó en abundante, moderada o escasa (Figura 5). Para inflamación, la presencia

o ausencia de inflamación y en caso de existir, se clasificó como leve, moderada o abundante.

Los datos obtenidos se introdujeron en una base de datos de Excel diseñada *ex profeso*; las variables categóricas se analizaron mediante χ^2 , con una confiabilidad del 95%. Se utilizó el programa SPSS versión 20.0. El estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León y Hospital Universitario (Registro con Clave CP14-001).

RESULTADOS

Estudiamos a seis perros; a cada uno se le realizaron seis heridas en el dorso y se efectuaron seis curaciones en total a cada herida y se tomaron 24 biopsias a cada perro. El total de biopsias fue de 144: a cada grupo 72 biopsias (Cuadros I y II) (Figuras 6 a 9).

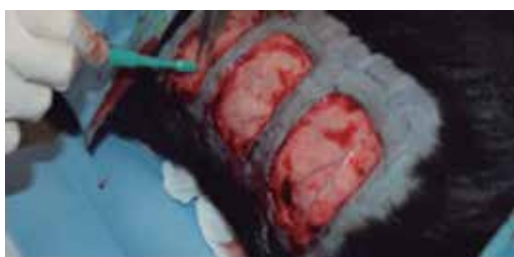


Figura 3. Toma de biopsia mediante dispositivo punch de 5 mm.



Figura 4. Aleatorización de frascos con soluciones de curación.

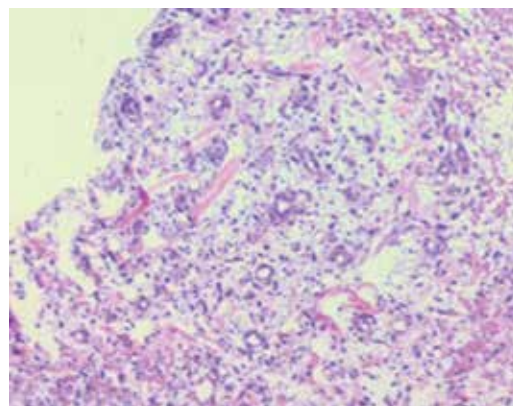


Figura 5. Abundantes vasos sanguíneos, tejido de granulación presente.

Cuadro I. Comparativa de densidad vascular entre ambos grupos.

| | Grupo experimental | | | | Grupo control | | | | Valor de p |
|----------|--------------------|------|----------|-----------|---------------|------|----------|-----------|------------|
| | Ausente | Leve | Moderado | Abundante | Ausente | Leve | Moderado | Abundante | |
| Semana 0 | 1 | 11 | 5 | 1 | 1 | 10 | 7 | 0 | 0.710 |
| Semana 1 | 0 | 1 | 5 | 12 | 0 | 0 | 4 | 14 | 0.531 |
| Semana 2 | 0 | 1 | 1 | 16 | 0 | 0 | 3 | 15 | 0.362 |
| Semana 3 | 0 | 0 | 6 | 12 | 0 | 1 | 4 | 13 | 0.487 |

Cuadro II. Comparativa de inflamación entre ambos grupos.

| | Grupo experimental | | | | Grupo control | | | | Valor de p |
|----------|--------------------|------|----------|-----------|---------------|------|----------|-----------|------------|
| | Ausente | Leve | Moderado | Abundante | Ausente | Leve | Moderado | Abundante | |
| Semana 0 | 18 | 0 | 0 | 0 | 16 | 0 | 0 | 2 | 0.146 |
| Semana 1 | 0 | 0 | 6 | 12 | 0 | 0 | 5 | 13 | 0.717 |
| Semana 2 | 1 | 1 | 11 | 5 | 0 | 0 | 6 | 12 | 0.006 |
| Semana 3 | 0 | 1 | 9 | 8 | 0 | 1 | 12 | 5 | 0.591 |

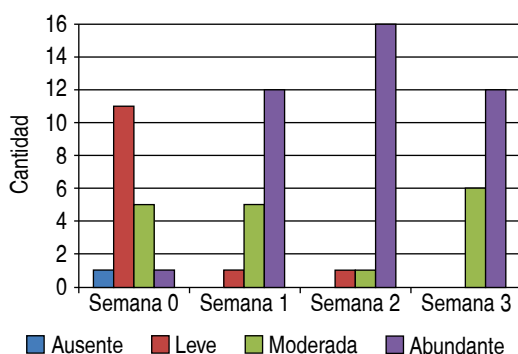


Figura 6. Densidad vascular en el grupo experimental.

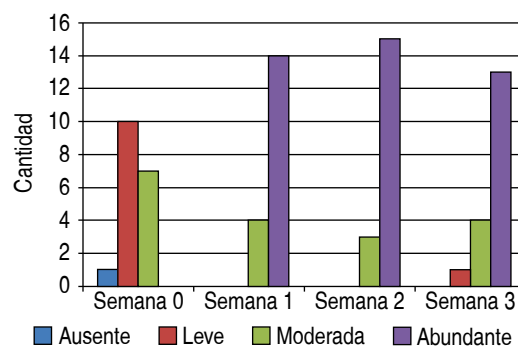


Figura 7. Densidad vascular en el grupo control.

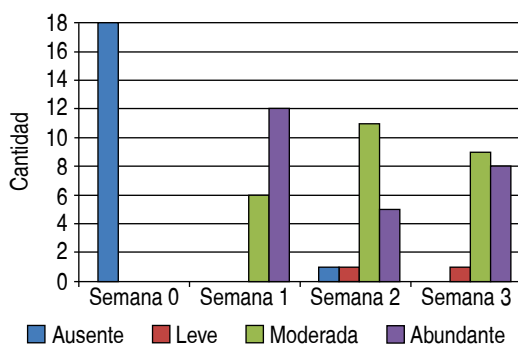


Figura 8. Inflamación en el grupo experimental.

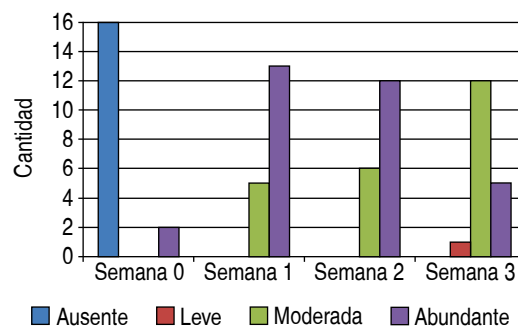


Figura 9. Inflamación en el grupo control.

DISCUSIÓN

Evaluar la eficacia y seguridad de las sustancias antisépticas para la curación de heridas es una práctica común para demostrar la actividad antimicrobiana y la disminución de la irritación de la piel en modelos animales. Las soluciones de superoxidación han mostrado ser efectivos antimicrobianos con distintas aplicaciones clínicas. Estas sustancias de superoxidación de pH neutro como el Microdacyn® tienen actualmente un

amplio uso en la curación de heridas sin inducir irritación en la piel en modelos animales, a pesar de su alto potencial de óxido-reducción.⁴ Sin embargo, una interrogante es el potencial de inducción de estrés oxidativo en las células que intervienen en el proceso de cicatrización cuando utilizamos estas soluciones de superoxidación en las heridas. En nuestra apreciación clínica observamos una disminución en la vascularidad del tejido de granulación al utilizar soluciones de superoxidación de pH neutro.

Hasta el momento de la realización de este estudio no encontramos evidencia científica de los efectos de estas sustancias de curación en la vascularidad del tejido de granulación, por tal motivo realizamos un estudio experimental para valorar el efecto del Microdacyn® en la vascularidad del tejido de granulación en un modelo animal. Comparamos los efectos en la vascularidad del tejido de granulación del Microdacyn® con la solución fisiológica. La vascularidad del tejido de granulación entre estos dos grupos fue similar, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa en las tres semanas de seguimiento ($p > 0.05$).

En cuanto a la inflamación, nuestros resultados reportan una disminución significativa ($p = 0.006$) para el grupo experimental sólo en la semana dos de seguimiento, motivo por el que sería conveniente realizar más estudios clínicos con respecto a la inflamación y el uso de Microdacyn®.

En un estudio de viabilidad de fibroblastos *in vitro*, los autores encontraron una viabilidad de los mismos del 70% al estar en contacto 30 minutos con el Microdacyn®.⁴ En nuestro estudio no encontramos evidencia de daño a la vascularidad del tejido de granulación en el grupo curado con Microdacyn® cuando se comparó con el grupo al que se le realizaron curaciones con solución fisiológica.

El diseño de la herida de 6 por 4 cm se basó en el concepto de la contracción de la herida dada por los miofibroblastos, evitando con esto el cierre por segunda intención.¹⁴ En un estudio de heridas en perros para valorar la cicatrización de heridas en el dorso, comparando ungüento de polietilenglicol (con propiedades de absorción hídrica) con una pasta de própolis (extracto de plantas extraído por abejas), se realizaron heridas de 3 cm de diámetro, encontrando una contracción y cicatrización de la herida del 87% para el grupo de polietilenglicol y 96% para el grupo de pasta de própolis a los 21 días de seguimiento.¹⁴

Una limitante del estudio es que, por cuestiones económicas, no utilizamos la técnica de inmunohistoquímica con anticuerpos CD34+ (células precursoras endoteliales) y anti-SMA (anticuerpo contra músculo liso), como lo reportan estudios previos en los que evaluaron la angiogénesis del tejido de granulación.^{6,15}

La inmunohistoquímica permite la localización microanatómica de su expresión (anticuerpo específico) y su correlación con los parámetros morfológicos, aumentando la sensibilidad y especificidad; sin embargo, las muestras de tejido de granulación fueron evaluadas por el patólogo utilizando el método de hematoxilina/eosina y microscopio de luz, reportando esta técnica como útil y efectiva en estudios previos.^{12,16,17}

Puntos a favor en el diseño de nuestro estudio son la aleatorización de las heridas y que éstas fueron doblemente cegadas, tanto para el investigador encargado de las curaciones y biopsias como para el patólogo encargado de revisar las mismas. Con esto disminuimos al máximo cualquier sesgo en las muestras analizadas.

En el manejo avanzado de las heridas es necesaria actualmente una cobertura que proporcione y mantenga un ambiente húmedo, absorba el exudado, mantenga un intercambio gaseoso, proteja del ambiente externo, aíse térmicamente, tenga poca adherencia y sea costo-efectiva (pocos recambios).¹⁷ En este estudio elegimos el hidrocoloide por ser un parche para la curación de heridas que cumple con las características mencionadas. Por otro lado, las curaciones húmedas-secas no son el estándar de tratamiento de las heridas en la actualidad, debido a que estas curaciones son dolorosas, secan la herida y lesionan las células de curación, impidiendo con esto la adecuada cicatrización.^{16,17} Además, consideramos que las curaciones diarias no son factibles en nuestra metodología por los riesgos anestésicos que implican las mismas en nuestro modelo animal.

El tejido de granulación se comienza a producir a partir del tercer o cuarto día después de producida la herida, teniendo su máxima maduración a las dos semanas; posteriormente la epitelización se produce y continúa una etapa de maduración de la herida que puede durar varios meses.³ El seguimiento de nuestras heridas fue de tres semanas, tiempo en el que la angiogénesis en el tejido de granulación está presente y puede ser evaluada en las muestras de los tejidos.

CONCLUSIONES

Podemos concluir que el uso de solución de superoxidación (Microdacyn®) en las heridas

limpias del modelo animal estudiado no modifica la vascularidad del tejido de granulación, comparado con la solución fisiológica. Al mismo tiempo, el Microdacyn® disminuye la inflamación en la segunda semana de seguimiento, por lo que se necesitan más estudios que evalúen la relevancia clínica de este hallazgo.

REFERENCIAS

1. Busuioc CJ, Mogoșanu GD, Popescu FC, Lascăr I, Pârvănescu H, Mogoantă L. Phases of the cutaneous angiogenesis process in experimental third-degree skin burns: histological and immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol*. 2013; 54 (1): 163-171.
2. Lu PJ, Yang C, Lin CN, Li CF, Chu CC, Wang JJ et al. Shiunko and acetylshikonin promote reepithelialization, angiogenesis, and granulation tissue formation in wounded skin. *Am J Chin Med*. 2008; 36 (1): 115-123.
3. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 117 (7 Suppl): 12S-34S.
4. González-Espinosa D, Pérez-Romano L, Guzmán-Soriano B, Arias E, Bongiovanni CM, Gutiérrez AA. Effects of pH-neutral, super-oxidised solution on human dermal fibroblasts *in vitro*. *Int Wound J*. 2007; 4 (3): 241-250.
5. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999; 341 (10): 738-746.
6. AlMalki WH, Shahid I, Mehdi AY, Hafeez MH. Assessment methods for angiogenesis and current approaches for its quantification. *Indian J Pharmacol*. 2014; 46 (3): 251-256.
7. Bauer SM, Bauer RJ, Velazquez OC. Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. *Vasc Endovascular Surg*. 2005; 39 (4): 293-306.
8. Vural E, Berbée M, Acott A, Blagg R, Fan CY, Hauer-Jensen M. Skin graft take rates, granulation, and epithelialization: dependence on myeloid cell hypoxia-inducible factor 1alpha. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010; 136 (7): 720-723.
9. Li J, Ollague-Sierra J, Zhu L, Tang L, Rahill K, El-Sabawi B et al. Effects of a topical aqueous oxygen emulsion on collagen deposition and angiogenesis in a porcine deep partial-thickness wound model. *Exp Dermatol*. 2013; 22 (10): 674-676.
10. Li J, Zhang YP, Zarei M, Zhu L, Sierra JO, Mertz PM et al. A topical aqueous oxygen emulsion stimulates granulation tissue formation in a porcine second-degree burn wound. *Burns*. 2015; 41 (5): 1049-1057.
11. Yamamoto H, Arai T, Ben S, Iguchi K, Hoshino M. Expression of galanin and galanin receptor mRNA in skin during the formation of granulation tissue. *Endocrine*. 2011; 40 (3): 400-407.
12. Slavkovsky R, Kohlerova R, Jirutova A, Hajzlerova M, Sobotka L, Cermakova E et al. Effects of hyaluronan and iodine on wound contraction and granulation tissue formation in rat skin wounds. *Clin Exp Dermatol*. 2010; 35 (4): 373-379.
13. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002; 3 (5): 349-363.
14. Abu-Seida AM. Effect of propolis on experimental cutaneous wound healing in dogs. *Vet Med Int*. 2015; 2015: 672643.
15. Boateng J, Catanzano O. Advanced therapeutic dressings for effective wound healing--a review. *J Pharm Sci*. 2015; 104 (11): 3653-3680.
16. Spear M. Wet-to-dry dressings-evaluating the evidence. *Plast Surg Nurs*. 2008; 28 (2): 92-95.
17. Lee JC, Kandula S, Sherber NS. Beyond wet-to-dry: a rational approach to treating chronic wounds. *Eplasty*. 2009; 9: e14.

Correspondencia:

Dr. Lenin Leopoldo Enríquez Domínguez

Calle de los Álamos Núm. 9741,
Fraccionamiento Los Álamos, 31125,
Chihuahua, Chihuahua, México.
Teléfono celular: 65 6107 1340
E-mail: lenin_enriquez@hotmail.com

www.medigraphic.org.mx