



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN CIRUGÍA PLÁSTICA Y
RECONSTRUCTIVA
HOSPITAL MILITAR “DR. CARLOS ARVELO”

**SUSTITUTOS DÉRMICOS FABRICADOS A PARTIR DE CELULAS MADRE
PROVENIENTES DE GELATINA DE WHARTON**

Trabajo Especial de Grado para optar al Título de Especialista en Cirugía Plástica y
Reconstructiva

Tutor: Nikolaos Antoniadis Petrakis.

Patricia Zambrano Soto.

Caracas, agosto 2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme alcanzar esta meta.

A mis padres por su guía y apoyo incondicional.

A los adjuntos y personal del Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo.

Al laboratorio de Ingeniería Tisular de la Universidad Simón Bolívar.

Patricia Zambrano

ÍNDICE DE CONTENIDO

Introducción	9
Objetivos	25
Hipótesis	25
Métodos	26
Resultados	29
Discusión	33
Conclusiones	35
Recomendaciones	36
Referencias	37
Anexos	44

SUSTITUTOS DÉRMICOS FABRICADOS A PARTIR DE CELULAS MADRE PROVENIENTES DE GELATINA DE WHARTON

Patricia Zambrano S., C.I. 13.014.347. Sexo: Femenino, E-mail: patriciazamb@hotmail.com. Telf: 0416-9954402/0212-6612978. Dirección: Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo. Especialización en Cirugía Plástica y Reconstructiva;

Tutor: **Nikolaos Antoniadis Petrakis**, C.I. 10.871.156. Sexo: Masculino, E-mail: nikosurgery@hotmail.com. Telf: 0414-3339077. Dirección: Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo. Especialista en Cirugía Plástica y Reconstructiva

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el uso de sustitutos dérmicos fabricados a partir de células madre derivadas de gelatina de wharton para tratamiento de defectos cutáneos. Método: Se realizó un estudio de tipo analítico comparativo, prospectivo, entre Mayo, 2011 y Noviembre 2011. La muestra consto de 16 pacientes, de cualquier edad, de uno u otro sexo, con defectos cutáneos menores al 5% de superficie corporal total, se dividieron en dos grupos haciéndose llamar como grupo "estudio" a 8 pacientes que recibieron los sustitutos dérmicos contentivos de células madre de gelatina de wharton y grupo "control" a los 8 pacientes restantes a los cuales se les colocó un sustituto dérmico sin células, ambos desarrollados en el laboratorio de ingeniería tisular de la Universidad Simón Bolívar. Resultados: El porcentaje de integración de los auto injertos cutáneos extra delgados, colocados posterior al tratamiento del lecho con sustitutos dérmicos contentivos de células madre, no mostró una diferencia significativa con respecto al grupo control. Conclusión: En este estudio no hubo evidencia estadísticamente significativa que soporte el hecho de que los sustitutos dérmicos fabricados a partir de células madre provenientes de gelatina de wharton preparen un buen lecho receptor o dermis para integrar auto injertos cutáneos extra delgados en el tratamiento de defectos cutáneos crónicos.

Palabras clave: Ingeniería Tisular, Célula Madre, Gelatina de wharton, Defecto Cutáneo.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the use of dermal substitutes made from stem cells derived from Wharton's jelly for treating skin defects. Method: We performed a comparative analytical study, prospective, between May 2011 and November 2011. The sample consisted of 16 patients, of any age, of either sex, with skin defects less than 5% of total body surface, were divided into two groups as a group calling themselves "study" to 8 patients receiving dermal substitutes contain stem cells from Wharton's jelly and "control" group to the remaining 8 patients who were fitted with dermal substitute without cells, both developed in the laboratory of tissue engineering from university Simon Bolivar. Results: The

percentage of integration of extra thin skin autografts, placed the bed after treatment with dermal substitutes contain stem cells, showed no significant difference from the control group. Conclusion: In this study there was no statistically significant evidence that supports the fact that dermal substitutes made from stem cells from Wharton's jelly prepare a good recipient bed or dermis to integrate extra thin skin autografts in the treatment of skin defects chronic.

Keywords: Tissue Engineering, Stem Cell, Wharton's jelly, skin defect.

INTRODUCCION

Las investigaciones en el campo de la medicina regenerativa están enfocadas al estudio y desarrollo de células, tejidos y órganos, con la finalidad de utilizarlos para restablecer la función de los tejidos y órganos dañados ⁽¹⁾. Así la ingeniería tisular se ha constituido como un campo de investigación primordial en el avance de la ciencia médica para el tratamiento de patologías muy diversas. En pleno auge se encuentra la investigación de las células madre, y en particular, de las presentes en el cordón umbilical, por ciertas características que presentan las mismas ⁽²⁾ y que ofrecen una luz en el tratamiento de ciertas afecciones de tejidos como la piel.

La piel es el órgano más extenso del cuerpo humano y tiene la función de actuar como barrera selectiva para proteger al organismo del medio externo ⁽³⁾, por lo que cualquier lesión que comprometa su integridad, puede resultar en un sustancial desbalance fisiológico, y en algunas ocasiones la muerte del individuo ⁽⁴⁾. A fin de evitar esto, el cuerpo reacciona desencadenando mecanismos de reparación bastante complejos ⁽⁵⁾, y es esa misma complejidad la causa de que aun no se haya conseguido la terapia ideal para el tratamiento y regeneración de lesiones cutáneas ⁽⁴⁾. Las heridas crónicas y con lechos defectuosos tales como úlceras varicosas, úlceras de presión, quemaduras de espesor total, etc., tienen una elevada incidencia, son difíciles de tratar y llegan a tener un gran impacto familiar y socioeconómico ^(6,7). La técnica mas comúnmente empleada para dar cobertura a estos defectos cutáneos consiste en colocar injertos de piel autologos

de espesor parcial o total. Así mismo; en aquellos casos, bastante comunes, de pacientes quemados en que la extensión cruenta no permite obtener suficiente epitelio autologo para injertar, crea un grave problema y por esta razón, el lograr una estructura equivalente a la piel autologa se ha convertido en un objetivo prioritario ⁽⁸⁾. Desde hace pocos años el desarrollo de equivalentes biológicos de la epidermis y dermis corresponde a uno de los objetivos clínicos principales de la ingeniería de tejidos. Esta nueva área de la biomedicina utiliza concepciones y métodos propios de la ingeniería para el desarrollo de órganos y tejidos de reemplazo que, en el caso de la piel, corresponden a su producción *in vitro* o incluso *in vivo* ⁽⁹⁾. El papel de la dermis no es solamente el ser una estructura pasiva de sostén, sino que ella tiene influencia activa en los procesos de adhesión, migración, diferenciación y crecimiento de células y tejidos. Además el tejido mesenquimático tiene una influencia decisiva en la formación de la membrana basal a través de la actividad paracrina de sus componentes celulares, ya que esta estructura estabiliza la unión física y química de la epidermis con la dermis ⁽¹⁰⁾. Tanto las células epidérmicas como las dérmicas secretan factores de crecimiento, como lo son citocinas, que interactúan estimulando la proliferación de las células epiteliales ⁽¹¹⁾. Recientemente una nueva generación de equivalentes dérmicos fue presentada, los cuales son únicamente generados a partir de matriz dérmica derivada de fibroblastos humanos. Estos son caracterizados desde células madres de médula ósea y gelatina de wharton de cordón umbilical por una marcada actividad biosintética y paracrina, lo cual es una alternativa atractiva para generar equivalentes dérmicos basados en células ⁽¹²⁾.

Planteamiento y delimitación del problema

Las quemaduras son un problema de salud pública dada la alta incidencia y gravedad de las mismas, dejando secuelas diversas en toda la economía del cuerpo humano de los pacientes que las presentan, siendo una de estas secuelas los defectos cutáneos, que dependiendo de la magnitud constituyen un reto para la cobertura y por tanto la funcionalidad y reincorporación del paciente a la sociedad, por lo que el tratamiento ha sufrido cambios significativos en las últimas décadas buscando obtener una estructura equivalente a la piel que cubra grandes áreas cruentas con lo cual se disminuye la morbi mortalidad de los pacientes, así como también una cobertura en otros casos como úlceras cutáneas crónicas, o tras la escisión de grandes extensiones de piel.

Justificación e importancia

Ante la necesidad de enfrentar los problemas que los defectos cutáneos conllevan tanto para el paciente como para sus familiares y en vista de que las alternativas son productos que ofrecen coberturas temporales con un costo elevado, utilizando los aportes de la ingeniería tisular, se realizará un estudio en busca de demostrar los beneficios clínicos, funcionales, al emplear células madre como sustitutos dérmicos como un primer paso que logre un lecho rico en factores de crecimiento y células así como un lecho receptor apto para integrar un injerto de piel extra delgado y garantizar el cierre definitivo de dichos defectos.

El presente estudio propone un estudio clínico piloto donde se evaluará en pacientes con defectos cutáneos el efecto de emplear sustitutos dérmicos contentivos de células vivas mesenquimales, las cuales se espera produzcan factores de crecimiento que promoverán la reparación de lechos cruentos, y ello permitirá promover un tejido de granulación óptimo para la recepción del injerto epitelial delgado y la regeneración funcional de la misma.

Antecedentes

Los avances en el cuidado de las heridas no podrían ser posibles sin el desarrollo de sustitutos de piel. Los sustitutos de piel, en un amplio sentido, incluyen un vasto número de apósitos cutáneos y sofisticados equivalentes de piel obtenidos por ingeniería tisular. A pesar que los apósitos cutáneos mejoran la calidad del lecho de las heridas y disminuyen el tiempo de curación, sirven solamente para dar cobertura temporal ⁽¹³⁾.

A partir de los años 70, la ingeniería tisular ha sido capaz de cultivar células epidérmicas (queratinocitos) autólogas y alogénicas y, más recientemente, buscando reproducir la anatomía y fisiología de la piel humana, se han creado “pseudodermis” sobre las cuales pueden desarrollarse los queratinocitos, siendo tales: colágeno ⁽¹⁴⁾, condroitinsulfato ⁽¹⁵⁾, ácido hialurónico ⁽¹⁶⁾, fibrina ⁽¹⁷⁾ y fibroblastos humanos ^(12,17).

La idea de usar células epidérmicas cultivadas en cantidades masivas para el cierre de las heridas ha sido considerada desde 1950. Dos décadas más tarde (1975) Rheinwald y Green lograron desarrollar, por primera vez, un sistema capaz

de generar grandes superficies de queratinocitos cultivados a partir de una pequeña biopsia de piel ⁽¹⁸⁾. A pesar de que el cultivo de queratinocitos ha representado un aporte crucial en el tratamiento de las heridas, su uso ha sido limitado sobretudo en caso de quemadura y heridas de espesor total, donde son propensos a perderse de forma temprana o tardía y provocar flictenas y contracturas, con pobres resultados funcionales y estéticos ⁽¹⁹⁾. Los numerosos reportes de su uso clínico han demostrado resultados muy variables, con integración desde 0% hasta 100%, pero más frecuentemente entre 30% y 85% ^(20,21).

Resultados clínicos obtenidos en los trasplantes de láminas de queratinocitos cultivados ha llevado a un consenso entre los investigadores de este campo, y es que, se necesita un sustituto dérmico para obtener una integración tanto exitosa como definitiva y resultados estéticos satisfactorios ⁽¹⁶⁾. El papel de la dermis no es solamente ser una estructura pasiva de sostén, sino que tiene una influencia activa en los procesos de adhesión, migración, diferenciación y crecimiento de células y tejidos. Además, el tejido mesenquimático tiene una influencia decisiva en la formación de la membrana basal a través de la actividad paracrina de sus componentes celulares, debido a que esta estructura estabiliza la unión física y química de la dermis con la epidermis, por lo tanto, facilita la integración y nutrición de esta última ⁽¹⁴⁾. Lo expuesto anteriormente demuestra que la necesidad de preservar dermis autóloga para el cierre óptimo de las heridas es obvia. Sin embargo, esto no es posible en quemaduras y heridas de espesor total. Con el objetivo de aportar una capa de reemplazo dérmico a las heridas de

espesor total, varios grupos de investigadores han preservando la alodermis de la piel de cadáver que fue usada inicialmente para cobertura temporal de la herida; mientras que la aloepidermis es retirada por dermoabrasión ⁽²²⁾. A pesar de que la capa epidérmica es removida, el poder antigénico de la dermis persiste. Este inconveniente se ha superado tratando la piel de cadáver con agentes químicos para obtener una matriz dérmica acelular, inmunológicamente inerte, conocida comercialmente como AlloDerm®. El AlloDerm® actúa como una plantilla para la regeneración de una dermis viable cuando es injertado en quemaduras de espesor total, demostrando mantener la estructura dérmica típica y las características bioquímicas que son indispensables para la granulación de los tejidos ⁽²³⁾. Otras bases dérmicas se han desarrollado como el Biobrane® que consiste en una membrana bilaminar con una malla de nylon cubierto con péptidos derivados de colágeno porcino tipo I y una delgada capa de silicona; Transcyte® contiene una malla de nylon cubierto con colágeno y fibroblastos neonatales; Integra® estructura bilaminar que contiene colágeno bovino y glicosaminoglicanos como matriz dérmica de reemplazo en adición a una lámina de silicón. Existen otros productos compuestos como Graftskin® contiene células alogénicas de prepucio neonatal, fibroblastos y queratinocitos así como colágeno bovino tipo I ⁽²⁴⁾.

Una matriz alternativa para la creación de dermis y el más reciente logro de la ingeniería tisular viene de células de cordón umbilical, las células madre promueven la reparación de los tejidos por secreción de factores que aumentan la regeneración de las lesiones tisulares, estimulando la proliferación y diferenciación de células parecidas a la progenitoras endógenas y disminuyendo la reacción

inflamatoria e inmune. La función inmunomoduladora de las células madre apaga las células T y bloquea la reacción inmune en los tejidos lesionados mientras asegura el reemplazo de células muertas por las progenitoras. Cuando las células madre en lugar de queratinocitos son cultivadas en equivalentes dérmicos bajo condiciones de piel organotípicas adquieren fenotipo y función miofibroblástica la cual resulta en matriz extracelular abundante, remodelando la contracción y favoreciendo la migración. Las células madre pueden ser de uso terapéutico para la regeneración de tejidos conectivos. En heridas, el proceso de regeneración requiere células igual que una matriz extracelular provisional para la migración celular, proliferación y diferenciación ⁽¹²⁾. En ingeniería tisular de piel artificial, la interacción parénquima estroma parece ser esencial y puede jugar un rol activo y formativo en la programación de la estructura y función final del tejido ⁽¹²⁾.

Marco teórico

Piel

La piel es el mayor órgano del cuerpo humano, que tiene como función la protección contra las agresiones externas y los microorganismos, el mantenimiento del contenido corporal del agua, el control de la temperatura, y la comunicación sensorial con el medio ambiente. Todas estas funciones primordiales que hacen que cualquier lesión de este órgano deban ser tratadas con rapidez ⁽¹⁴⁾. Tiene un área que va de 1,5 a 2,0 m² en adultos y un peso de 4 kg. Aproximadamente ⁽³⁾. La piel realiza sus funciones de traducción de energía a

mecanismos celulares y extracelulares a través de la integración de sus diferentes capas a fin de proveer información al cerebro para realizar las respuestas apropiadas ⁽³⁾. Está constituida por tres zonas: la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis es la parte más superficial de la piel y se encuentra constituida por dos grupos de células: células dendríticas y células no dendríticas. La *dermis* está situada por debajo de la *epidermis* y está constituida por tejido conectivo, sustancia fundamental y células fibroblásticas. La *hipodermis*, llamada también panículo adiposo o tejido celular subcutáneo, está constituido por células grasa que se conocen con el nombre de adipocitos, los cuales se disponen en lóbulos separados por tejido conectivo llamados septos o tabiques interlobulillares.

La epidermis es la parte más superficial de la piel y se encuentra constituida por dos grupos de células: queratinocitos o células no dendríticas y células dendríticas. Los queratinocitos cumplen con varias funciones, de las cuales la principal es la de producir queratina, pero además sintetizan otras sustancias químicas, como: alfa interferón, prostaglandinas, factor estimulante de colonias granulocíticas-monocíticas, factor activador de los timocitos, derivado de las células epidérmicas. Los queratinocitos a su vez se organizan en capas o estratos, que de la más superficial hacia adentro son:

- Capa cornea: está formada por células que no tienen núcleo y su grosor varía de acuerdo al sitio anatómico, en las zonas como palmas y plantas es mayor.
- Capa lucida: es una línea intensamente eosinofila ubicada por debajo de la capa cornea y se le identifica en los sitios donde esta es gruesa (palmas y plantas).

- Capa granulosa: está formado por células romboidales que tienen gránulos de queratohialina, mismos que le dan su nombre y que se tiñen intensamente con la hematoxilina. Su grosor depende del de la capa cornea.
- Capa espinosa *escamoso o Malpighiano*: lo constituyen células poligonales que poseen puentes intercelulares, estructuras que sirven como medio de unión entre ellas y a la vez con las capas adyacentes.
- Capa basal *germinal o germinativa*: está formada por células cilíndricas que se disponen generalmente en una hilera, tienen puentes intercelulares que son menos evidentes que los de la capa espinosa. En el estrato basal se encuentra la melanina, pigmento normal de la piel, cuya cantidad varía de acuerdo al tipo de piel de cada individuo.

El segundo tipo celular de la epidermis son las células dendríticas:

- Melanocitos
- Células de Langerhans
- Células indeterminadas.

Los *melanocitos*, llamados también células claras o células de Masson, se observan a nivel de la capa basal como células de citoplasma claro y núcleo pequeño y oscuro. Se encuentran intercalados entre las células basales en una relación aproximada de un melanocito a diez células basales y pueden distinguirse fácilmente con microscopia de luz y con tinciones de rutina. Las proyecciones dendríticas de los melanocitos permiten el paso de melanina a los queratinocitos basales.

Las *células de Langerhans* se originan en la médula ósea y se localizan en la piel y otros sitios como la mucosa oral, vagina, ganglios linfáticos y timo. En la piel, se ubican en las zonas supra basales de la epidermis y ocasionalmente en la dermis.

La *dermis* está situada por debajo de la *epidermis* y está constituida por tejido conectivo, sustancia fundamental y células (25). Como principales células se encuentran los fibroblastos y adicionalmente la dermis contiene los anexos (glándula sebácea, folículo piloso, glándula sudorípara) y terminales sensoriales (tacto, dolor, presión y temperatura), además de contener dos plexos arteriovenosos, uno superficial en contacto con la epidermis y uno profundo en contacto con el tejido celular subcutáneo ⁽²⁶⁾. El tejido conectivo a su vez está formado por tres tipos de fibras: Colagenas, elásticas y reticulares. Las fibras colagenas son las más numerosas, la disposición y el grosor de las mismas, varía de acuerdo al nivel en que se encuentran: en la dermis superficial o papilar son fibras delgadas, a diferencia de la dermis media y profunda, donde son más gruesas y se disponen en haces casi paralelos a la superficie de la epidermis.

Las *fibras elásticas* se observan con tinciones especiales de orceína o resorcinafuccina, son fibras delgadas de 1 a 3 micras de diámetro, el grosor al igual que el de la colagena y varía de acuerdo al nivel en que se encuentran: delgadas en dermis superficial y gruesas en dermis profunda. En la dermis papilar configuran un plexo: son las fibras de elaulina y de oxitalan.

Las *fibras reticulares* también requieren de tinciones especiales para su observación. Miden de 0.2-1 micra de diámetro, son un tipo especial de fibra

colagena de tipo III. La sustancia fundamental de la dermis contiene glucosaminoglicanos o mucopolisacaridos ácidos.

La *hipodermis*, llamada también panículo adiposo o tejido celular subcutáneo, está constituida por células grasas, que se conocen con el nombre de adipocitos, los cuales se disponen en lóbulos separados por tejido conectivo llamados septos o tabiques interlobulillares.

Regeneración cutánea.

Los mecanismos de reparación de heridas cutáneas se ponen en funcionamiento tras una lesión que altere la continuidad de la superficie. Para restablecer la integridad del área lesionada se cuenta con diversos procesos de acción simultánea conocidos como fases de la reparación cutánea. Las fases identificadas son la inflamatoria, la proliferativa y la de remodelación tisular ^(3,14). Estas no tienen límites estrictos en el tiempo y generan como resultado un tejido con características similares, pero no idénticas, a la piel ilesa ⁽⁵⁾. La herida en el tejido cutáneo causa una respuesta de cicatrización aguda en condiciones fisiológicas normales. La reparación cutánea o cicatrización espontanea se realiza de dos maneras diferentes: una desde las células del borde si la herida es de pequeñas dimensiones; la segunda se lleva cabo a partir de las células epiteliales contenidas en los anexos cutáneos, si la herida es amplia pero no profunda. Si la herida es extensa y profunda afectando la totalidad de la dermis, no podrá ser reparada espontáneamente, lo cual crea un grave problema con riesgo de muerte

si la lesión cubre un elevado porcentaje del cuerpo ⁽¹⁴⁾. La lesión en el tejido precipita la coagulación sanguínea, la agregación plaquetaria, y la migración de leucocitos, incluyendo neutrófilos y macrófagos, al sitio de herida. Al principio, el coagulo de sangre es compuesto de fibrina y fibronectina, que proporciona un andamio para la migración celular y la agregación de plaquetas, y estos procesos liberan factores de crecimiento en el tejido circundante ⁽¹⁴⁾. La fibrina no solo sirve como soporte sino que también estimula la migración de los queratinocitos por disrupción de las adhesiones celulares e indirectamente por exposición de los queratinocitos al plasminogeno, un estimulador de la migración ⁽⁵⁾.

Las sustancias liberadas durante la fase inflamatoria, entre las cuales se encuentran el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el factor de crecimiento transformante β , el factor de crecimiento de fibroblastos y factor de crecimiento epidérmico, influyen en la actividad de fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales, que participan en la formación del coagulo y la matriz extracelular ⁽⁵⁾. Así mismo, los fibroblastos liberan citoquinas y factores de crecimiento que tienen efectos paracrinós y autocrinós. La actividad autocrina está determinada por el factor de crecimiento transformante β , el cual induce la síntesis y secreción de factor de crecimiento epidérmico que promueve la síntesis de colágeno y la proliferación de los fibroblastos. La actividad paracrina actúa sobre el crecimiento y diferenciación de los queratinocitos, específicamente sobre la secreción del factor de crecimiento de queratinocitos, el Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos, la interleuquina- 6 y factor de crecimiento de fibroblastos. En respuesta los queratinocitos sintetizan interleuquina -1,

proteína relacionada con la parathormona, la cual estimula los fibroblastos a producir factor de crecimiento de queratinocitos dando lugar a un doble lazo de regulación paracrina ⁽²⁷⁾. La piel artificial es capaz de responder molecular y celularmente luego de sufrir una herida. Esta respuesta aparece imitando el proceso de reparación “in vivo” y puede proporcionar ideas sobre principios fundamentales de la cicatrización. También, se ha demostrado que en piel desarrollada artificialmente es posible la re-epitalización por sí misma, y además esta es capaz de sufrir una respuesta organizada a una herida en términos de la producción de una respuesta pro-inflamatoria temprana mediada por la liberación de citoquinas y una respuesta posterior mediante la liberación de factores de crecimiento. El proceso de re-epitelialización parece ser asociado con un cambio marcado de queratinocitos de la proliferación a la migración. Juntos estos dos indicadores muestran el potencial del modelo in vitro para el entendimiento del proceso de curación de heridas cutáneas.

Sustitutos de piel.

El objetivo primario de los sustitutos de piel es restablecer una barrera epidérmica que minimice la pérdida de proteínas, líquidos y prevenga la infección, y en condiciones ideales, el objetivo máximo es restaurar la anatomía y fisiología de la piel normal después que la cicatrización de que la herida ha ocurrido ⁽²⁸⁾. La reconstrucción *in vitro* de la piel implica el aislamiento de queratinocitos de la epidermis del propio paciente y su multiplicación mediante técnicas de cultivo específicas; la reconstrucción de la dermis a partir de colágeno, glicosaminas y

fibroblastos; y finalmente, el crecimiento del equivalente epidérmico sobre la dermis reconstruida.

Cordón umbilical

En estos últimos años, el cordón umbilical se ha convertido en un elemento de interés para la medicina regenerativa ya que constituye una fuente importante de células madre. El cordón umbilical es el órgano que representa la unión entre el feto y la madre durante el embarazo. Se desarrolla en la semana 26 de gestación del mesodermo extraembrionario o embrionario ⁽²⁹⁾, y va creciendo progresivamente hasta formar un cordón helicoidal que mide 60-65cm de largo y pesa 40g al nacimiento ^(30,31). Desde un punto de vista histológico, el cordón umbilical está compuesto por un epitelio simple derivado del amnios que recibe el nombre de epitelio umbilical ^(30,32). Dentro del cordón umbilical nos encontramos con dos arterias y una vena que se enrollan en espiral quedando inmersos en un tejido conectivo mucoso en donde no hay vasos capilares ni linfáticos, la cual fue descrita por primera vez en 1656 por Thomas Wharton ⁽³⁴⁾. Como los vasos sanguíneos carecen de adventicia, la gelatina de wharton suple la función de la adventicia y participa en la regulación del flujo sanguíneo del cordón umbilical ^(35,36).

En la gelatina de wharton se distinguen los siguientes componentes: Matriz extracelular, rica en fibras de colágeno; proteoglicanos, siendo el ácido hialurónico el más abundante ⁽³⁷⁾, lo cual confiere a la matriz extracelular una mayor hidratación, quedando así el cordón umbilical, protegido de las presiones

mecánicas ⁽³⁸⁾. El componente celular está compuesto por células estromales, las cuales fueron reconocidas como fibroblastos inusuales ya que son células con algunas características ultra estructurales de fibroblastos y de células de musculo liso; entre otras cosas expresan vimentina ^(39,40) que es un filamento intermedio del citoesqueleto que solo lo expresan las células de origen mesenquimal como los fibroblastos y no lo expresan las células de musculo liso ⁽⁴¹⁾; y por otro lado, expresan proteínas contráctiles tales como actina, miosina no muscular, desmina y α actina del musculo liso ^(42,43). Por tanto estas células estromales de la gelatina de wharton contribuyen: 1) en la elasticidad de la gelatina de wharton, al sintetizar fibras de colágeno, 2) en la regulación del flujo sanguíneo, por sus propiedades contráctiles ⁽⁴⁴⁾. Pero no solo tienen estas propiedades sino que también tienen capacidad de proliferación y potencial de diferenciación, es decir, poseen las dos cualidades necesarias para ser consideradas células madre ⁽⁴⁵⁾.

Hasta los momentos se han encontrado cuatro fuentes de células madres en el cordón umbilical: Amnioblastos, proceden de la membrana amniótica y recubren el tejido conectivo del cordón umbilical formando un epitelio simple ^(46,47); células progenitoras hematopoyéticas, de la sangre del cordón umbilical; células madre vasculares de la vena umbilical; células madre de la gelatina de wharton del cordón umbilical de las cuales se pueden distinguir tres poblaciones celulares distintas: 1)células madre perivasculares, 2)células madre de la gelatina de wharton de la zona intervascular y 3) células madre de la gelatina de wharton de la región subamniótica ⁽⁴⁸⁾.

Estos tres tipos celulares presentan distinto grado de diferenciación celular, potencial de diferenciación y capacidad proliferativa ⁽⁴⁰⁾.

Por otro lado, las células madre de la gelatina de wharton tienen ciertas diferencias con las células mesenquimales adultas, lo cual les confiere ciertas ventajas para su uso en la práctica clínica:

- 1) Elevada actividad telomerasa por tener telómeros largos, por lo que pueden dividirse sin problemas.
- 2) Baja expresión de moléculas del complejo de histocompatibilidad mayor clase I y ausencia de expresión del complejo de histocompatibilidad mayor clase II, por tanto no deberían desencadenar una respuesta inmune de rechazo huésped contra injerto ⁽⁴⁹⁾.

Objetivo general

Evaluar el uso de sustitutos dérmicos fabricados con células madre derivadas de gelatina de wharton para tratamiento de defectos cutáneos.

Objetivos específicos

1. Obtener células madre de la gelatina de wharton de cordón umbilical humano empleando el método de migración.
2. Desarrollar sustitutos dérmicos empleando células madres de la gelatina de wharton de cordón umbilical humano sobre matrices de quitosano.
3. Medir el efecto del tratamiento con sustitutos dérmicos en la regeneración de dermis en pacientes con defectos cutáneos considerando si ello favorece la integración del injerto epidérmico.

Hipótesis

Las células madre obtenidas de la gelatina de Wharton mejoran las propiedades regenerativas de un sustituto dérmico adecuado para el tratamiento de defectos cutáneos.

METODOS

Se realizo un estudio de tipo analítico comparativo, prospectivo, entre mayo, 2011 y noviembre 2011.

Población y muestra:

La población estuvo constituida por pacientes de la consulta del servicio de cirugía plástica del hospital militar de Caracas “Dr. Carlos Arvelo” con defectos cutáneos de abril 2011 a noviembre 2011.

La muestra consto de 16 pacientes, de cualquier edad, de uno u otro sexo, controlados de sus patologías médicas de base (de existir alguna), con defectos cutáneos menores al 5% de superficie corporal total, en cualquier localización corporal, de cualquier etiología (quemaduras, úlceras varicosas, úlceras de presión, etc.) y libres de infección; quienes firmaran un consentimiento informado y se dividirán en dos grupos haciéndose llamar como grupo “estudio” a 8 pacientes que recibieron los sustitutos dérmicos contentivos de células madre de gelatina de wharton y grupo “control” a los 8 pacientes restantes a los cuales se les coloco un sustituto dérmico sin células, ambos desarrollados en el laboratorio de ingeniería tisular de la Universidad Simón Bolívar.

El muestreo fue de tipo intencional no probabilístico.

Criterios de inclusión:

Pacientes de cualquier edad, masculino o femenino, con defectos cutáneos menores al 5% de superficie corporal.

Criterios de exclusión:

Pacientes con defectos cutáneos mayores de 5%; evidencia macroscópica de infección.

Procedimientos. Los cordones umbilicales fueron obtenidos de mujeres gestantes a término que previamente aceptaron participar en el estudio a través del consentimiento informado. Después de cada nacimiento se secciono bajo estrictas normas de asepsia y antisepsia 5 a 10 cm de cordón umbilical, las muestras fueron colectadas en quirófano, conservadas en medio de transporte *Dulbecco's Modified Eagle Medium* complementado con Penicilina/Estreptomicina y anfotericina) y llevadas al Laboratorio de Ingeniería de Tejidos de la Universidad Simón Bolívar. En el laboratorio, se realizó un corte transversal sobre la muestra de cordón umbilical, y se procedió a retirar los vasos sanguíneos y restos de sangre que pudieron contener la muestra, haciendo 3 lavados con buffer fosfato salino. El tejido se cortó en fragmentos de tamaño pequeño, cerca de 2 mm² y se colocaron en las placas de cultivos a fin de obtener las células por migración. Los trozos se mantuvieron en medio *α modified Eagle médium* complementado con suero fetal bovino al 5%, en incubadora con ambiente de humedad de 98%, temperatura 37°C y 5% CO₂. El medio de cultivo se cambió cada 3-4 días hasta

obtener el cultivo primario, posteriormente se amplificaron los cultivos hasta lograr 3 a 4 millones de células lo cual permitió la fabricación del sustituto dérmico empleando geles de quitosano. Los sustitutos dérmicos se colocaron en placas de cultivo estériles con medio de cultivo para su transporte. Se enviaron al hospital Dr. Carlos Arvelo en frío (a 4°C) y posterior se colocaron en el paciente en un periodo no mayor de 3 horas. Se colocaron en el defecto cutáneo, permaneció con apósito oclusivo durante 10 días al cabo del cual se levanto la cura y se evaluó la regeneración dérmica a través de la presencia o no de tejido de granulación, lo cual se registro fotográficamente. Posteriormente se procedió a realización de injerto cutáneo de espesor parcial ultra delgado y la evaluación de la integración del mismo.

Tratamiento estadístico adecuado

Se calculó la media y la desviación estándar de las variables continuas: edad y el tamaño de la lesión, en el caso de las variables nominales: sexo, localización, técnica, tejido de granulación, secreción-infección, epitelización e integración se calcularon sus frecuencias y porcentajes.

Los contrastes de las variables continuas se basó en la prueba U de Mann-Whitney, en el caso de las variables nominales se basó en la prueba exacta de Fisher (tablas 2 x 2) y para tablas de 2 columnas y más de 2 filas se aplicó la prueba chi-cuadrado de Pearson. Se consideró un valor significativo de contraste si $p < 0,05$. Los datos fueron analizados con SPSS 18.

RESULTADOS

En el Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo en Caracas, Venezuela, se realizó un estudio de tipo analítico comparativo, prospectivo, entre Mayo, 2011 y Noviembre 2011, para evaluar los Sustitutos dérmicos fabricados a partir de células madre provenientes de gelatina de wharton para cobertura de defectos cutáneos, que arrojó los siguientes resultados:

Tabla 1.

Sustitutos dérmicos fabricados a partir de células madre provenientes de gelatina de wharton. Distribución de la muestra según variables demográficas.

Variables	Células madres	Control	p
N	8	8	-
Edad	29 ± 16	37 ± 9	0,279
Sexo			1,000
Masculino	4 (50,0%)	5 (62,5%)	
Femenino	4 (50,0%)	3 (37,5%)	

Edad expresada como media desviación estándar.

En la tabla 1 se muestra que la edad promedio del grupo en estudio fue de 29 años y la del grupo control fue de 37 años. Además el género que prevaleció fue el masculino para ambos grupos.

Tabla 2.

Sustitutos dérmicos fabricados a partir de células madre provenientes de gelatina de wharton. Distribución de la muestra según la localización del defecto cutáneo.

Localización	Células madres		Control	
	n	%	n	%
Miembro inferior derecho	3	37,5	1	12,5
Miembro inferior izquierdo	3	37,5	4	50,0
Miembro superior derecho	1	12,5	0	0,0
Miembro superior izquierdo	1	12,5	1	12,5
Tronco	0	0,0	2	25,0
Total	8	100,0	8	100,0

$$\chi^2 = 4,143 \text{ (p} = 0,387\text{)}$$

En la tabla 2 se muestra que la localización del defecto cutáneo fue más frecuente en los miembros inferiores para ambos grupos.

Tabla 3.

Sustitutos dérmicos fabricados a partir de células madre provenientes de gelatina de wharton. Distribución de la muestra según las características del defecto cutáneo.

Variables	Células madres		Control		p
	N	%	N	%	
Tejido de granulación					
Si	8	100,0	8	100,0	n/a
No	0	0,0	0	0,0	
Secreción e infección					1,000
Si	1	12,5	0	0,0	
No	7	87,5	8	100,0	
Epitelización					1,000
Si	2	25,0	2	25,0	
No	6	75,0	6	75,0	
Integración					1,000
Si	3	50,0	4	66,7	
No	3	50,0	2	33,3	

En la tabla 3 se muestra tejido de granulación en los 16 casos (100%) para ambos grupos; secreción en el defecto en 1 solo paciente; epitelización en 4 de ellos con 50% del grupo de estudio y en 50 % del grupo control; integración del injerto solo en 7 de ellos, 30% del grupo de estudio y el 40% del grupo control.

DISCUSIÓN

En este estudio se comparo sustitutos dérmicos contentivos de células madre para mejorar las propiedades regenerativas de los mismos para el tratamiento de defectos cutáneos en 16 pacientes de cualquier edad, de uno u otro sexo, controlados de sus patologías médicas de base (de existir alguna), con defectos cutáneos menores al 5% de superficie corporal total, en cualquier localización corporal, de cualquier etiología (quemaduras, úlceras varicosas, úlceras de presión, etc.) y libres de infección; 8 pacientes recibieron los sustitutos dérmicos contentivos de células madre de gelatina de wharton y los 8 pacientes restantes se les colocó un sustituto dérmico sin células. La mejora en el tejido de granulación con factores de regeneración se evaluó al decimo día al levantar los apósitos, luego al quinto día al evaluar la integración del injerto cutáneo a través de la evaluación visual de adhesión, coloración y presencia de secreción. Los sustitutos dérmicos fueron desarrollados en el laboratorio de ingeniería tisular de la Universidad Simón Bolívar con matriz de quitosano. El porcentaje de regeneración e integración de los autoinjertos cutáneos extra delgados, colocados posterior al tratamiento del lecho con sustitutos dérmicos contentivos de células madre, no mostró una diferencia significativa con respecto al grupo control. En 2 pacientes hubo epitelización del defecto.

A pesar de estudios que describen que el papel de la dermis no es solamente ser una estructura pasiva de sostén, sino que tiene una influencia activa en los procesos de adhesión, migración, diferenciación y crecimiento de

células y tejidos ⁽¹⁰⁾, aunado a que el tejido mesenquimático tiene una influencia decisiva en la formación de la membrana basal a través de la actividad paracrina de sus componentes celulares, así las células madre cultivadas en equivalentes dérmicos bajo condiciones de piel organotípicas adquieren fenotipo y función miofibroblástica la cual resulta en matriz extracelular abundante, remodelando la contracción y favoreciendo la migración celular con lo que facilita la nutrición e integración de la epidermis ⁽¹²⁾, el resultado del presente estudio no es comparable con lo expuesto anteriormente.

Los sustitutos dérmicos en comparación con los desarrollados con ingeniería tisular no cuentan con células que adicionan factores de crecimiento al lecho.

CONCLUSIONES

En este estudio no hubo evidencia estadísticamente significativa que soporte el hecho de que los sustitutos dérmicos fabricados a partir de células madre provenientes de gelatina de wharton preparen o mejoren el lecho receptor o dermis para integrar auto injertos cutáneos extra delgados en el tratamiento de defectos cutáneos.

No hubo diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de integración de los auto injertos cutáneos extra delgados sobre lechos tratados previamente con células madre (grupo estudio) comparado con aquellos sin células madre (grupo control).

RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar los estudios de investigación para identificar métodos más eficientes que permitan mejorar los elementos contentivos de los sustitutos dérmicos y disminuir el tiempo requerido para su preparación. Estos permitirán una mayor eficacia clínica, y reducción de la morbilidad y mortalidad de los pacientes con defectos cutáneos crónicos.

Disminuir los costos de estos productos permitiría realizar estudios con una mayor muestra de pacientes donde se puedan medir otros beneficios y limitaciones descritos con el uso de los sustitutos dérmicos.

REFERENCIAS

- 1.- Montalvo V, A. Evaluación genética y micro analítica de las células madre de la gelatina de wharton para su utilización en ingeniería tisular. Universidad de Granada, Facultad de Medicina, tesis doctoral, 2008.
- 2.- Maraños G, C. Potencialidad queratinocítica de las células madre de la gelatina de wharton para su utilización en ingeniería tisular. Universidad de Granada, Facultad de Medicina, tesis doctoral, 2010.
3. - Boyce, S. Desing principles for composition and performance of cultured skin substitutes. Burns 2001; 27: 523-533.
4. - Clark, R., Ghosh k. Tissue Engineering for Cutaneous Wounds. Journal of Investigative Dermatology 2007; 127: 1018-1029.
- 5.- Benavides, J. Reparación de heridas cutáneas. Revista Asociación Colombiana Dermatología 2008; 29-35.
6. - Ho, W. Skin substitutes: An overview. Ann Coll Surg 2002; 6(4): 102-108.
- 7.- Gibbs, S., Hoogenband, H. Autologous full-thickness skin substitute for healing chronic wounds. Br J Dermatol 2006; 155(2): 267-74.
8. - Damour, O., Braye, F. Culture autologous epidermis for massive burn wounds: 15 years of practice. Skin substitute production by tissue engineering: clinical and fundamental applications. Heidelberg, Germany, Springer-Verlag.

- 9.- Concha, M., Vidal, A. Producción de equivalentes dermo-epidérmicos autologos para el tratamiento de grandes quemados y cicatrices queloides." Cuadernos de Cirugía. 2002; 16 (1): 41-47.
10. - Parenteau, L., Sabolinski, M., Mulder, G and Rovee, D. Wound research. In "chronic wound care a clinical source for healthcare professionals". D. Krasner and d. Kane eds "da ed. Health management publications, Wayne 1997; 389-395.
11. - Maas-Szabowski, N., Shimotoyodome, A and Fusenig, N. Keratinocytes growth regulation in fibroblast coculture via a double paracrine mechanism. Journal of cell Science 1999; 112:1843-1853.
- 12.- Schneider R., Anraths, J., Kramann, R., Bornemann, J., Bovi M., Knüchel, R., Neuss. S. The role of biomaterials in the direction of mesenchymal stem cell properties and extracellular matrix remodelling in dermal tissue engineering. Biomaterials 2010; 31: 7948 -7959.
13. - Wai-Sun, H. Skin substitutes: An overview. Ann Coll Surg. 2002; 6(4): 102-108.
- 14.- Arvelo, F., Pérez, P. Obtención de laminas de piel humana mediante Ingeniería de tejidos. Acta científica venezolana 55, 2004.
15. -Powell, H., Boyce, S. Wound closure with EDC cross-linked cultured skin substitutes grafted to athymic mice. Biomaterials 2007; 28(6):1084-1092.
- 16.-Rennekampff, H. Estado actual de los sustitutos de piel temporales y permanentes.

- 17.- Raymund E. Horch, Jürgen Kopp, Ulrich Kneser, Justus Beier, Alexander D. Bach. Tissue engineering of cultured skin substitutes. J Cell Mol Med. 2005; 9(3): 592-608.
- 18.-Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. Cell. 1975; 6: 331-343.
- 19.- Llames Sara, Del Rio Marcela, Larcher Fernando, García Eva, García Marta, José Escamez María; et al. Human plasma as a dermal scaffold for the generation of a completely autologous bioengineered skin. Transplantation 2004; 77(3): 350-355.
- 20.- Serracanta Doménech, J., Gómez Morell, P., Palao Doménech, R. Tratamiento integral de paciente con quemadura de 2ºGP-3er G en el 95% de superficie corporal. Cultivo de queratinocitos. Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana 2005; 31(4): 251-260
- 21.- Gallico GC, O' Connor NE, Compton CC, Remensnyder JP, Kehinde O, Green H. Cultured epithelial autograft for giant congenital nevi. Plast Reconstr Surg. 1989; 84: 1-9.
22. - Heck El Bergstrasser PR, Baxter CR. Composite skin graft: Frozen dermal allografts support the engraftment and expansion of autologous epidermis. J Trauma 1985; 25: 106-112.
23. - Wainwright DJ. Use of an acellular allograft dermal matrix (Alloderm) in the management of full-thickness burns. Burns 1995; 21:245-248.

24. - Jones I, Currie L. and Martin R. A guide to biological skin substitutes. British Journal of plastic Surgery, 2002, 55, 185-193.

25.- Navarrete F., G. (2003). "Histología de la piel." Revista de la facultad de medicina de la UNAM 130-133.

26. - Zapata, R. and A. Bolgiani (2007). Atención básica inicial del quemado (A.B.I.Q).

Atención básica inicial del quemado (A.B.I.Q).

27. - Wong, T. M. (2007). "The Role of Fibroblasts in Tissue Engineering and Regeneration."

28.- Zapata Sirvent, R., C. Jiménez Castillo, et al. (2005). Quemaduras. Tratamiento Crítico y Quirúrgico. Caracas.

29. - Sadler T.W. Second week of development: bilaminar germ disc in: Sadler TW Langmans medical embryology, 9ª ed. Philadelphia. Lippincot Williams and Wilkins 2004, p 57.

30.- Raio I., Ghezzi F., Di Naro E., Gomez R., Franchi M., Mazor M., Bruhwinler H. Sonographic measurement of umbilical cord and fetal anthropometric parameters. Eur J obstet ginecol reprod boil.1999; 83(2):131-135

31. - Di Naro E., Ghezzi F., Raio I., Franchi M., D'Addario V. Umbilical cord morphology and pregnancy outcome J obstet ginecol reprod boil.2001;96(2):150-157.

- 32.- Copland IB., Adamson SL, Post M., Lye SJ., Cannigia I. TGF-Beta 3 expresion during umbilical cord development and its alteration in pre eclampsia. Placenta, 2002; 23 (4):311-321
- 33.- Mizoguchi M, Suga Y, Sanmano B, Ikeda S, Ogawa H. Organotypic cultura and surface plantation using umbilical cord epithelial cells: morphogenesis and expression of differentiation markers mimicking cutaneus epidermis. J dermatol Sci, 2004; 35(3):199-206
34. - Wharton TW. Adenographia. Translate by S Freer. 1Ed. Oxford UK: Oxfort University Press, 1996; pp 242-248
- 35.- Bruch JF, Sibony O, Benali K, Challier JC, Blot P, Nessman C. Computerized microscope morphometry of umbilical vessels from pregnancies with intrauterine growth retardation and abnormal umbilical artery Doppler. Hum Patol. 1997. 28(10):1139-1345
- 36.- Weissman A, Jakobi P, Bronsthein M, Goldstein I. Sonographic measurement of umbilical cord and vessels during normal pregnancies. J Ultrasound med 1994; 13(1):11-14
- 37.- Sobolewski K, Bankowski E, Chyczewski L, Jaworski S. Collagen and glycosaminoglycans of Wharton`s jelly. Biol neonate. 1997; 71 (1):11-21
38. - Sakamoto T, Ono H, Saito Y. Electron Microscopic histochemical studies on the localization of hialuronic acid in wharton`s jelly of the umbilical cord. Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.1996; 48 (7):501-507
39. - Kasper M, Stosiek P, Karsten U. Coexpression of cytokeritins and vimentin in hialuronic acid_rich tissues. Acta histochem 1988; 84(1):107-108

- 40.- Karahuseyinoglu S, Cinar O, Kilic E, Kara F, Akay G, Demiralp D, Tukun A, UckanD, Can A. Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and in vitro surveys. Stem cells.2007; 25(2):319-331
41. - Kreis T, Vale R. Guidebook to the cytoskeletal and motor proteins. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1999; pp. 297-299 y 324-326
42. - Eyden B, Ponting J, Davies H, Bartley C, Torgersen E. Defining the myofibroblast: normal tissues, with special reference to the stromal cell of Wharton s jelly in human umbilical cord. J submicrosc Cytol Patol. 1994; 26(3):347-355
43. - Akerman F, Lei Z, Rao C. Human umbilical cord and fetal membranes co-express leptin and its receptor genes. Ginecol Endocrinol. 2002; 16(4):299-306
44. - Takechi K, Kuwabara Y, Mizuno M. Ultrastructural and immunohistochemical studies of wharton's jelly umbilical cord cells. Placenta. 1993; 14(2):235-245
45. - Can A, Karahuseyinoglu S. Concise review: human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells. Stem cells. 2007; 25(11):2886-2895
- 46.- Miki T, Lehmann T, Cai H, Stolz D, Strom S. Stem cells characteristics of amniotic epithelial cells. Stem cells. 2005; 23(10):1549-1559
47. - Sanmano B, Mizoguchi M, Suga Y, Ikeda S, Ogawa H. Engraftment of umbilical cord epithelial cells in athymic mice: in an attempt to improve reconstructed skin equivalents used as epithelial composite. J Dermatol Sci. 2005; 37(1):29-39
48. - Troyer D, Weiss M. Wharton s jelly derived cells are a primitive stromall cell population. Stem Cells. 2008; 26(3):591-599

- 49.- Weiss M, Medicetty S, Bledsoe A, Rachakatla R, Choi M, Merchav S, Luo Y, Rao M, Velagaleti G, Troyer D. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of parkinson's disease. Stem cells. 2006; 24(3):781-792
50. - NARDI N, DASILVA, M. Mesenchymal stem cells: Isolation, in vitro expansion and characterization. Handbook of Experimental Pharmacology, 2006.

ANEXOS

Universidad Central de Venezuela

Facultad de Medicina

Especialización en Cirugía Plástica y Reconstructiva

Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo

FICHE DE RECOLECCION DE DATOS

Nombre y Apellido:

Edad:

Sexo:

Fecha de Ingreso:

Num Hist:

Diabetes Mellitus: sí: _____ no: _____ **Tiempo de Evolución:**

Otras patologías:

Defecto Cutáneo:

Localización: MID _____ MII _____ MSI _____ MSD _____ TRONCO _____.

Tamaño: _____ x _____

Características del defecto:

Características	Si	No
Tejido de granulación		
Secreción - Infección		
Epitelización		
Integración		

Fotografía: SI: _____ NO: _____.

Tto: Quitosano: _____ Celulas Madre: _____

MID: Miembro Inferior derecho

MII: Miembro Inferior Izquierdo

MSD: Miembro Superior derecho

MSI. Miembro Superior izquierdo

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

Invitación a participar en un proyecto de investigación clínica piloto
denominado: **USO DE CELULAS MADRE OBTENIDAS DE LA GELATINA DE
WHARTON PARA LA FABRICACION DE SUSTITUTOS DÉRMICOS PARA
COBERTURA DE DEFECTOS CUTÁNEOS**

La piel es un órgano esencial por sus numerosas funciones; todas ellas primordiales para la vida. Esto obliga al cirujano plástico a tratar las lesiones de este órgano con rapidez.

Hoy en día existen un número creciente de pacientes que acuden a los centros hospitalarios sufriendo diferentes tipos de lesiones en la piel. En muchas ocasiones, hay limitaciones para poder curar estas patologías de forma eficiente. En el Hospital Dr. Carlos Arvelo en conjunto con la Universidad Simón Bolívar se propone la realización de un estudio que permitirá mejorar el tratamiento de defectos cutáneos empleando el desarrollo de sustitutos dérmicos con células madre para aumentar las posibilidades del cierre cuando sea colocado un injerto de su piel, teniendo como fin mejorar su calidad de vida.

Se colocara una matriz experimental que ha demostrado ser biocompatible en estudios previos por un periodo de 10 días con apósito oclusivo, posterior se realizara injerto cutáneo.

La Dra. Patricia Zambrano me ha explicado la naturaleza y propósito de este procedimiento, también me ha informado las ventajas, complicaciones, molestias y riesgos que el estudio tiene, así como el tiempo de duración de la investigación y posibles alteraciones al tratamiento propuesto. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas han sido contestadas satisfactoriamente.

La decisión para formar parte de este estudio es voluntaria, usted podrá retirarse en el momento que lo desee, sin dar explicaciones, esto NO afectará la calidad de la atención médica ni modificará el tratamiento que recibe.

Se le solicita que de su autorización y si está de acuerdo, su doctor recolectará los datos requeridos para incluirlos en la base de datos y se le tomará la muestra

CONSENTIMIENTO INFORMADO DE ACEPTACIÓN

Yo, _____, titular de la C.I N°: _____, certifico que he leído este documento de CONSENTIMIENTO INFORMADO y me han explicado su contenido, lo entiendo y autorizo a los médicos a recolectar la información médica; así como la toma de muestra.

Entiendo que este estudio es beneficioso para la Cirugía Reconstructiva, manifiesto estar plenamente de acuerdo con el mismo y por ello *doy mi consentimiento* para su realización.

Firma: _____.

Fecha _____ Tlf: _____

Nombre del Testigo: _____

CI: _____ Telf.: _____

Firma del Testigo: _____

Nombre y Firma del Médico: _____

Fecha:

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL DONANTE

Yo _____, CI. _____ autorizo a la Dra. Patricia Zambrano y al Laboratorio de Ingeniería de Tejidos - USB a utilizar el cordón umbilical (producto de desecho del proceso de parto), con fines exclusivos para el uso del proyecto piloto de investigación clínica titulado "Uso de células madre obtenidas de la gelatina de Wharton para la fabricación de sustitutos dérmicos para el tratamiento de defectos cutáneos".

Certifico que he leído y comprendo perfectamente lo anterior y que me encuentro en capacidad de expresar mi libre albedrío.

Nombre del Paciente

Firma del Paciente

Nombre del Testigo

Firma del Testigo

Médico Tratante

Firma del Médico tratante

Campana de flujo laminar









