

CICATRIZACION INDUCIDA POR EL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMICO

Dra. María Esther Chirinos R.*
Br. Vanessa Piquero Casals**
Br. Jaime Piquero Casals**
Dr. Jaime Piquero Martin***
Dr. Oscar Reyes Flores****

Chirinos M, Piquero V, Piquero J, Piquero J, Reyes O:
**Cicatrización inducida por el factor de crecimiento
epidérmico:** Dermatología Venezolana 30: 99-104, 1992.

RESUMEN

Estudios experimentales en animales han demostrado que la aplicación tópica del factor de crecimiento epidérmico acelera la cicatrización en quemaduras.

Nosotros por tal motivo, diseñamos un estudio clínico prospectivo, al azar, doble ciego utilizando como modelo experimental cobayos, para determinar si este factor acelera el proceso de la cicatrización. Se estudiaron un total de 15 cobayos, divididos en tres grupos de cinco cada uno: un grupo A, los cuales fueron tratados con, unibase; grupo B fueron tratados; con sulfadiazina de plata en crema y el C con crema de sulfadiazina de plata más el factor de crecimiento epidérmico (10/g).

No se, pudo concluir *que* , la substancia en estudio aceleró el proceso de cicatrización en la población estudiada. Sin embargo, debido al pequeño número estudiado, es necesario realizar nuevos estudios con una población mayor para determinar su eficacia terapéutica.

SUMMARY

Experimental studies in animals have demonstrated that the topical application of epidermal growth factor accelerates the rate of epidermal regeneration of partial thickness wound and second degree burns.

We conducted a prospective, randomized, double - blind clinical trial using of partial - thickness wound *in* guinea pigs, to determine whether epidermal growth factor would accelerate the rate of epidermal regeneration.

Fifteen guinea pigs were divided in 3 groups of 5: Group A were treated topically with silver sulfadiazine cream containing epidermal growth factor (10/g), Group B were treated with silver sulfadiazine cream and Group C were treated with hydrophilic ointment.

We couldnt conclude that epidermal growth factor accelerates the rate of healing of partial thickness skin wound in guinea pigs.

Further studies are required to determine the clinical importance of this finding.

Palabras Claves: Factor de crecimiento epidérmico, Cicatrización

* Ex-residente post-grado de Dermatología.
Instituto de Biomedicina.

** Estudiante de Medicina U.C.V.

*** Adjunto Instituto de Biomedicina.

**** Dermatólogo. Instituto de Biomedicina.

INTRODUCCION

Este estudio intenta comprobar el efecto cicatrizante de un péptido de 53 aminoácidos aislado de extractos de glándulas salivales de ratón, descubierto por Cohen y Hevi - Moltacini en 1960, llamado así por inducir la proliferación de las células basales epidérmicas. Desde 1988 se produce en Cuba, en el centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, de donde nos fue facilitado el producto en una molécula que contiene una gran conservación evolutiva y existiendo más del 70% de homología estructural entre el EfG humano y murino y al cual se ha probado sus efectos biológicos in vitro, está en relación con el incremento de la proliferación de queratinocitos del epitelio corneal, del epitelio de glándula mamaria, de células endoteliales y de fibroblastos (aumentando la síntesis proteica y de los glucosaminoglicanos).

Con relación a sus efectos biológicos in vivo, en la epidermis estimula la hiperplasia e hipertrofia, lo cual lleva a un crecimiento en el número de células mitóticas, incrementando el contenido de ADN y ARN además, de la actividad de las enzimas epidérmicas.

Nosotros buscamos comprobar si esta substancia tiene poder cicatrizante mayor que el uso de un agente antibacteriano sólo o un ungüento hidrófilo inerte.

MATERIALES Y METODOS

Con la finalidad de probar el efecto del producto a investigar sobre la inducción de la cicatrización se utilizó como modelo de experimentación el COBAYO (GUINEA PIGS). Este animal tiene características morfológicas, fisiológicas e inmunológicas similares a las del organismo humano; dentro de los parámetros de bajo costo y fácil manipulación a nivel de laboratorio, además, de su fácil cría y fecundidad.

Se tomaron 15 cobayos divididos en tres grupos:

Grupo A: Recibieron una combinación de la crema a investigar conteniendo el Factor de Crecimiento Epidérmico recombinante con la substancia antibacteriana (Sulfadiazina de Plata al 1%) en una de las heridas (inferior), en la otra se colocó una substancia inerte (superior).

Grupo B: Recibieron sólo la crema con sulfadiazina de plata al 1% en ungüento hidrófilo, en una de las heridas (inferior), y en la otra la superior la substancia inerte.

Grupo C: Testigo. Se les aplicó una substancia inerte (UNIBASE), en una de las heridas (superior), en la otra se dejó que cicatrizara sin recibir ningún medicamento (inferior).

Con relación a la metodología a seguir, previo afeitado de la zona dorsal y colocación de anestesia infiltrativa (Lidocaína al 2%) se hicieron dos heridas con sacabocados de 10 mm, una en la región dorsal superior y otra en la región contralateral inferior, regiones que garantizan la inaccesibilidad del cobayo para tratar de quitarse el producto o lamerse el área injuriada.

Diariamente a cada uno de los grupos de animales, se hicieron dos aplicaciones diarias de una película sobre las heridas, con los preparados a investigar según el grupo de cobayo asignado. En los días 2 (48 horas del inicio de la investigación), 3, 7, 10 y 14 se procedió a sacrificar un animal de cada grupo y se tomó biopsias con sacabocados que abarcó toda la periferia de las heridas realizadas en cada animal.

Cada biopsia se procesó histológicamente y se coloreó por el método de hematoxilina eosina y observada por un examinador ciego que evaluó el proceso de cicatrización que se produjo en cada caso desde el punto de vista microscópico.

Los parámetros clínicos fueron los siguientes:

1.- Inflamación de los bordes.

- 2.- Presencia o no de secreción.
- 3.- Presencia o no de tejido de granulación.
- 4.- Diámetro de superficie: utilizándose una misma regla milimetrada.
- 5.- Los animales a sacrificar en cada día se les tomó fotografía de las heridas siguiendo los mismos parámetros de iluminación, rollo fotográfico y distancia.

RESULTADOS

A.- Evaluación clínica

1.- Inflamación

- a) Ungüento inerte: Las heridas a las que se les aplicó el ungüento inerte (excipiente) tenían tendencia a la inflamación, así que al tercer día de un total de 12 cobayos, cinco presentaron inflamación leve y dos inflamación moderada.

- Día 7: De nueve cobayos 4 presentaron inflamación leve y una moderada.

- Día 10: De seis cobayos 5 presentaron inflamación leve.

- Día 14: De tres cobayos 2 presentaron inflamación leve.

- b) Cicatrización espontánea: A las heridas que se les permitió cicatrizar espontáneamente no se les apreció en ninguno de los días inflamación periherida.

- c) Cicatrización con agente antibacteriano: A las heridas que se les aplicó la crema con sulfadiazina de plata al 1% no se les apreció en ninguno de los días inflamación periherida.

- d) Cicatrización con agente antibacteriano y factor de crecimiento epidérmico: Con respecto al grupo de cobayos que se les aplicó la crema con sulfadiazina de plata y factor de crecimiento epidérmico sólo uno de ellos en el

día 10 presentó inflamación leve.

2.- Presencia de Secreción

En ninguna de las heridas se observó secreción purulenta en los días observados.

3.- Tejido de Granulación

Esta no pudo observarse de una manera fiel ya que las heridas se cubrían con una costra adherente, en especial la costra de las heridas tratadas con la crema con sulfadiazina de plata o con la combinación de sulfadiazina de plata y factor de crecimiento epidérmico, las cuales tenían características hemáticas, a diferencia de las heridas con ungüento inerte que presentaban características serosas y las heridas que se dejaron cicatrizar espontáneamente eran serohe-máticas.

4.- Diámetro de la Herida

Por la necesidad de toma de material para biopsia en los días 2, 3, 4, 7, 10 y 14 el universo de animales se disminuyó de 15 a 3, por lo que la evaluación comparativa en promedio fue estadísticamente insuficiente con riesgo de un gran sesgo de error para este parámetro (ver nota de los autores).

Sin embargo, pudimos comparar los parámetros absolutos con respecto a la disminución de las heridas en mm (Ver cuadro y gráfico N° 1) y encontramos que la línea de tendencia parece ser positiva para las heridas en que se les aplicó la crema de sulfadiazina de plata con EGF.

ESTUDIO HISTOLOGICO

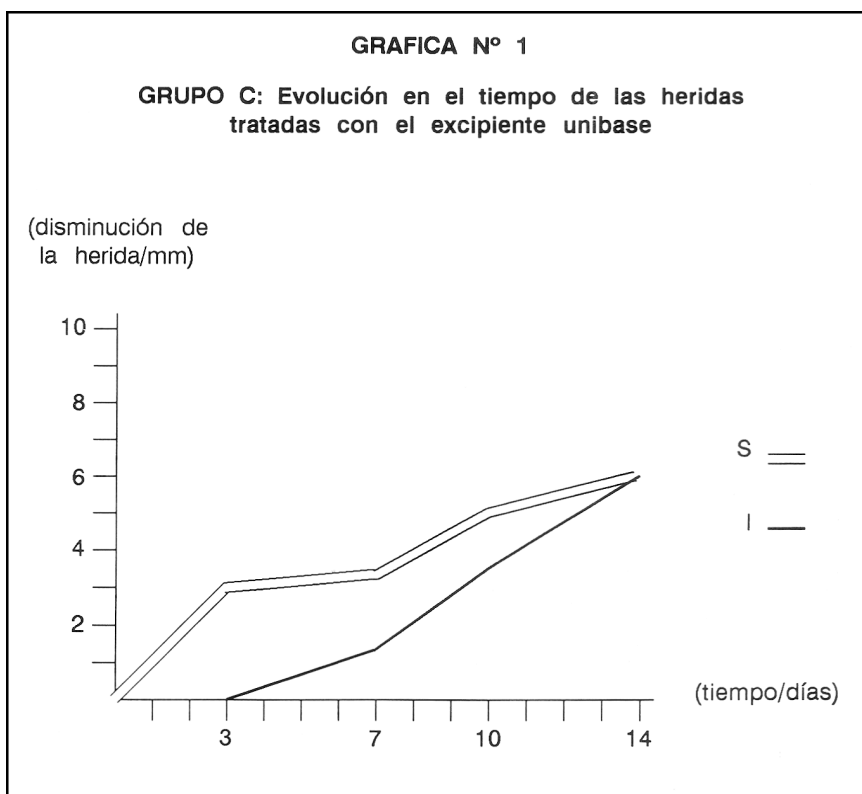
Se realiza una evaluación descriptiva de las biopsias según el grupo y el día utilizando la coloración de hematoxilina eosina.

Patrón de corte de piel sana del cobayo:

Epitelio estratificado rectificado muy plegado de poco espesor.

Cuadro de la Gráfica N° 1 correspondiente al Grupo C

Grupo	Día N° 3		Día N° 7		Día N° 10		Día N° 14	
	Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	Inf
C	3	0	3.33	1.33	5	3.5	6	6



Colágeno muy laxo con gran cantidad de anexos pilosebáceos.

Cobayos del grupo A:

Evolución en el tiempo de las heridas tratadas con el excipiente unibase.

Día 2: Infiltrado inflamatorio abigarrado disperso en el todo del espesor de la dermis y grasa.

Día 3: Infiltrado inflamatorio tiende a disponerse en banda en la parte superior de la dermis.

Día 7: Colágeno neoformado con infiltrado inflamatorio discreto en la parte inferior. Proliferación de luces vasculares.

Día 10: Proliferación de fibroblastos y luces vasculares.

Día 14: Reaparece la banda de células inflamatorias, resto de la preparación está compuesto por fibroblastos alternados con colágeno.

Cobayos del grupo A:

Evolución en el tiempo de las heridas tratadas con la crema de factor de crecimiento epidérmico y sulfadiazina de plata.

Día 2: Aparece discreto infiltrado inflamatorio disperso.

Día 3: El infiltrado inflamatorio se aglutina en la zona superior del área con pérdida de la substancia.

Día 7: Muy escaso infiltrado inflamatorio, toda la zona está

formado por fibroblastos y nuevo colágeno.

Día 10: Se mantienen los fibroblastos en la parte superior de la dermis y aparece una epitelización en el borde de la preparación. Aparece la membrana basal en la zona de pérdida de sustancia.

Día 14: La zona epitelizada con formación de crestas interpapilares y colágeno con una proliferación importante de fibroblastos. No aparecen los anexos.

Cobayos del grupo B:

Evolución en el tiempo de las heridas tratadas con excipiente (Unibase).

Día 2: Infiltrado inflamatorio importante disperso en la preparación.

Día 3: Se mantiene infiltrado inflamatorio.

Día 7: No contributoria. Tejido disgregado.

Día 10: Gran cantidad de fibroblastos entremezclados con células inflamatorias y eritrocitos. Neoformación del colágeno.

Día 14: Epitelización total de la preparación sobre neocolágeno y áreas hemorrágicas.

Cobayos del grupo B:

Evolución en el tiempo de las heridas tratadas con Sulfadiazina de Plata.

Día 2: Infiltrado inflamatorio con tendencia a aglutinarse.

Día 3: Mantiene iguales características.

Día 7: No hay células inflamatorias. Neocolágeno con luces vasculares y fibroblastos entremezclados.

Día 10: Abundantes fibroblastos en dermis inferior debajo de un colágeno neoformado. Todo ello cubierto de costra serohemática.

Día 14: Dos cortes de piel, una con epitelio estratificado y anexos y otra formada por un colá-

geno joven con proliferación de fibroblastos, no epitelizada.

Cobayos del grupo C:

Evolución en el tiempo de las heridas tratadas con excipiente.

Día 2: Tejido con infiltrado inflamatorio disperso.

Día 3: La infiltración inflamatoria abarca toda la preparación.

Día 7: No hay infiltrado inflamatorio. Fibroblastos entremezclados con neoformación de vasos cargados de eritrocitos.

Día 10: Infiltración de fibroblastos.

Día 14: Tejido de granulación. No epitelización de la zona dañada.

Cobayos del grupo C:

Evolución en el tiempo de las heridas dejadas cicatrizar espontáneamente.

Día 2: Muy escaso infiltrado inflamatorio.

Día 3: Se mantiene el mismo patrón de escaso infiltrado inflamatorio.

Día 7: Colágeno nuevo y fibroblastos.

Día 10: Proliferación de fibroblastos cubierto de una costra serohemática.

Día 14: Se epiteliza la zona con un epitelio rectificadado sobre un colágeno con muchos fibroblastos y eritrocitos extravasados.

ANALISIS DE LOS RESULTADOS

Aparentemente no existen modificaciones importantes desde el punto de vista clínico en lo referente al diámetro de las heridas, aunque existe una tendencia no estadísticamente apreciable, de aceleración en la re-epitelización de la herida inflingida para el grupo que utilizó la crema objeto de investigación (ver cuadros y gráficos 1, 2, 3).

Con respecto a la inflamación, la cual demuestra una respuesta de defensa por parte del organismo ante una agresión externa, se comprobó que las heridas que recibieron el ungüento hidrofílico lo presentaron en mayor frecuencia probablemente porque ellos inducen un ambiente ecológico de maceración del área, que permite el crecimiento bacteriano.

Esta inflamación no se apreció en ninguna otra de las heridas estudiadas.

No se apreció secreción en ninguna de las heridas, esto puede ser explicado por el tipo de respuesta que puede generar un mamífero inferior como lo es el cobayo ante injurias sobre la piel, o por el ambiente relativamente limpio del bioterio.

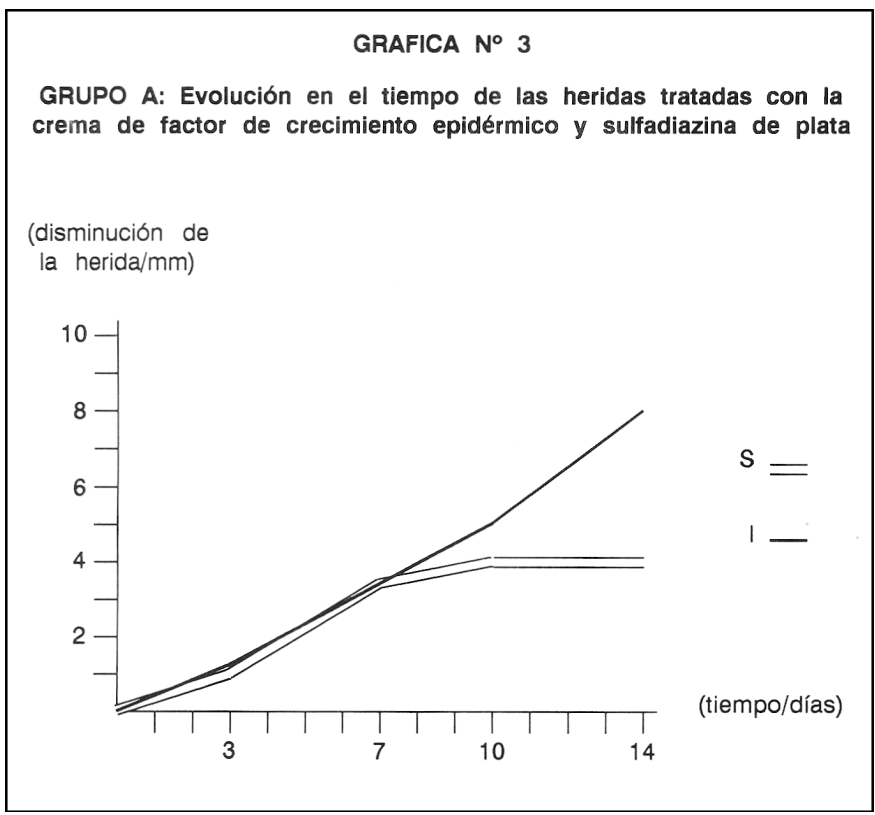
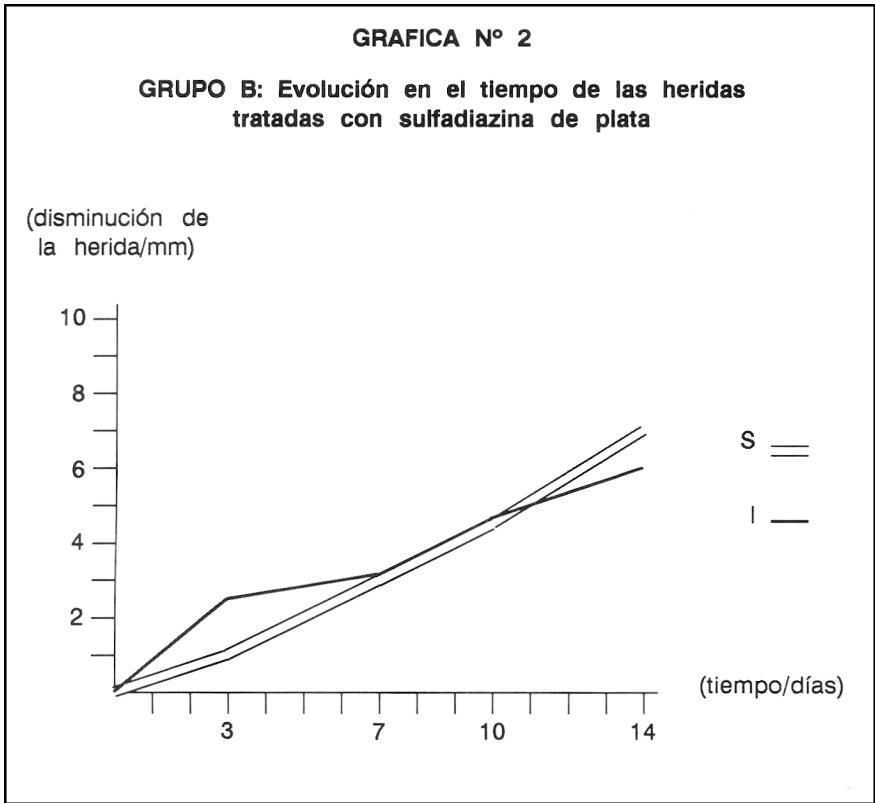
No se apreció tejido de granulación, pero la observación de la costra hemática en las heridas a las que se les colocó las cremas de sulfadiazina de plata o con la combinación de ambas cremas hacen pre

Cuadro de la Gráfica Nº 2 correspondiente al Grupo B

Grupo	Día Nº 3		Día Nº 7		Día Nº 10		Día Nº 14	
	Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	Inf
C	1	2.5	2	3	4.5	4.5	7	6

Cuadro de la Gráfica Nº 3 correspondiente al Grupo A

Grupo	Día Nº 3		Día Nº 7		Día Nº 10		Día Nº 14	
	Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	Inf
A	1	1.2	3.3	3.3	4	5	4	8



sumir la conformación de un tejido de granulación subyacente, ya que éste ocurre cuando existe un tejido vascularizado.

ANALISIS DEL ESTUDIO HISTOLOGICO

Este análisis es meramente descriptivo, objeto de subjetividad del observador, esta posibilidad de riesgo de error fue obviada al efectuar el análisis un observador ciego, es decir, el investigador desconocía la procedencia del material a estudiar.

- 1.- Las heridas que fueron tratadas con el excipiente solamente (unbase) presentaron una importante infiltración inflamatoria que se mantiene en algunos casos hasta el día 14. Se produce colágeno a partir de abundancia de fibroblastos pero no logra la cicatrización excepto en uno de los grupos en donde ocurrió la re-epitelización en el día 14.
- 2.- Las cremas con EGF y sulfadiazina de plata así como las heridas que se dejaron cicatrizar espontáneamente se comportaron en forma más o menos similar en los días 2, 3 y 7, observándose que en los días 2 y 3 las heridas que se encontraban cicatrizando espontáneamente tenían menos infiltrado inflamatorio que los otros dos grupos de heridas.
- 3.- El día 10 lo consideramos muy importante para analizar ya que mientras las heridas que se dejaron cicatrizar espontáneamente y las que se aplicó la crema con sulfadiazina sola presentaban abundancia de fibroblastos y tejido colágeno neoformado en forma similar; las que fueron tratadas con la crema con el factor de crecimiento epidérmico más sulfadiazina de plata presentaban la formación de un epitelio estratificado en los bordes de la herida y un lecho de membrana basal en el resto. Esta observación nos induce a pensar que el EGF sí produce una re-epitelización más acelerada.

4.- El día 14 nos muestra a las heridas que se dejaron cicatrizar espontáneamente y las heridas tratadas con la crema que contenía el EGF que lograron la completa re-epitelización, aunque esta última era de mayor grosor y conformación de crestas interpapilares. La herida con sulfadiazina de plata aunque sí logra granular satisfactoriamente no logró la completa epitelización.

CONCLUSIONES

- 1.- La cicatrización espontánea de una herida sin la aplicación de ninguna terapia en un ambiente limpio logra tan buenos resultados como la colocación de cremas con sustancias antibacterianas y mejores resultados que la aplicación de cremas oclusivas.
- 2.- Las cremas oclusivas son contraproducentes en el manejo adecuado de una herida abierta.
- 3.- La utilización de una sustancia que induzca la regeneración epitelial no pudo comprobarse en

forma clara que pueda acelerar el proceso de cicatrización.

- 4.- La observación anterior tiene como fundamento la observación de que en el día 10 cuando la neoformación del colágeno se logró (en forma similar para los tres grupos) el efecto de la crema con EGF produjo indicios, aún por comprobar desde el punto de vista metodológico de acelerar el proceso de epitelización.
- 5.- No se evidenció que el producto acelere la regeneración de fibroblastos, ya que la formación del nuevo colágeno fue por igual desde el punto de vista microscópico con la crema o sin ella.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Clark R: Pathophysiology of wound healing. Pathophysiology of Dermatology Diseases. 2da Edition. McGraw Hill, Inc 369-376, 1991.
- 2.- Brown G, Nanney L, Griffen J, et al: Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. N Engl J Med 321: 7679, 1989.

- 3.- Quiñones M, Mc Cook J, Zacca E y cols: Efecto del factor de crecimiento epidérmico humano recombinante sobre las úlceras de miembros inferiores causadas por insuficiencia venosa crónica. PCM 5: 11-14, 1991.
- 4.- Factor de Crecimiento Epidérmico. Aplicaciones clínicas. Resultados preliminares. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba. Comunicación personal.
- 5.- Alert J, Rodríguez J y cols: Acción radioprotectora local del factor de crecimiento epidérmico humano recombinante. Reporte preliminar. Interferon y Biotecnología 6: 62, 1989.
- 6.- Barroso M, Fonseca R y cols: Efecto del factor de crecimiento epidérmico humano recombinante sobre úlceras cutáneas. Reporte preliminar. Interferon y Biotecnología 6: 57, 1989.
- 7.- Rothe M, Falanga V: Growth factors. Arch Dermatol 125: 1390-1395, 1989.
- 8.- Cabrera M, Agar A, Le Bert M: Conceptos generales de citoquinas. Dermatología 7: 20-21, 1991.
- 9.- Cabrera M, Agar A, Le Bert M: Factores de crecimiento. Dermatología 7: 16-19, 1991.



Sociedad Venezolana
de
Dermatología

XXVIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD VENEZOLANA DE DERMATOLOGIA

Maracaibo, Estado Zulia
Hotel Del Lago Maracaibo

25 al 28 de Noviembre de 1992