

## Técnicas quirúrgicas: Sustitutos epidérmicos. Cultivo de queratinocitos

Beatriz López Obregón  
Médico Interno Residente. Servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reparadora  
Xerencia de Xestión Integrada A Coruña. A Coruña. España  
e-mail: [Beatriz.Lopez.Obregon@sergas.es](mailto:Beatriz.Lopez.Obregon@sergas.es)

Han sido muchos los avances en el manejo de los pacientes quemados críticos en los últimos años, lo que ha permitido un aumento importante de la supervivencia. Sin embargo, ante una pérdida cutánea extensa, el tratamiento quirúrgico sigue siendo un reto para el cirujano. El desbridamiento precoz de las quemaduras para eliminar el tejido dañado hasta conseguir un lecho viable y la cobertura mediante injertos de piel autólogos constituye el *gold standard* del tratamiento quirúrgico. Sin embargo, un daño masivo en este órgano nos limita la posibilidad de obtener los injertos del paciente por la escasez de zonas donantes. Cuando esto sucede, la reparación de estas lesiones es de carácter vital, por lo que

debemos encontrar alternativas de cobertura. Las alternativas de las que disponemos actualmente para la cobertura de grandes superficies son: el autoinjerto, los sustitutos temporales (biológicos, sintéticos), y los derivados de la ingeniería tisular.

Los sustitutos derivados de la ingeniería tisular, permiten la obtención de grandes proporciones de epitelio autólogo partiendo de una pequeña biopsia de piel sana. El cultivo de queratinocitos pertenece a la categoría de sustitutos epidérmicos. Los primeros estudios publicados sobre el cultivo de piel datan de finales del siglo XIX, aunque es a partir de mediados del siglo XX cuando comienzan a publicar trabajos sobre el cultivo de querati-

## Técnicas quirúrgicas: Sustitutos epidérmicos. Cultivo de queratinocitos

nocitos. En 1975 Rheinwald y Green (Figura 1) encuentran un soporte adecuado para el crecimiento de queratinocitos *in vitro*, basado en fibroblastos murinos 3T3 irradiados en combinación con factores de crecimiento. Los queratinocitos eran capaces de formar colonias, expandirse hasta formar láminas y estratificarse. Para la utilización de estas láminas se utilizó el



Figura 1. Esquema del cultivo clásico de queratinocitos según la técnica de Rheinwald y Green

enzima "dispasa" que era capaz de separar las láminas cultivadas de los sustratos sin digerir las uniones entre los queratinocitos.

Gracias a estos avances, en 1981 O'Connor et al. lograron realizar por primera vez un implan-

te de piel humana basado en el cultivo de queratinocitos.

El cultivo de queratinocitos comienza con la toma de una biopsia de piel sana de unos 3-4 cm<sup>2</sup> que se procesa mediante fragmentación mecánica y digestión enzimática para aislar el componente epidérmico. Estas células epidérmicas se depositan sobre un soporte de fibroblastos murinos 3T3 irradiados, que crean el entorno adecuado para el crecimiento y la formación de colonias de queratinocitos. Una vez obtenida la confluencia de los queratinocitos y la estratificación en unas 3 - 4 semanas, las láminas deben ser separadas del soporte mediante tratamiento enzimático con dispasa o termolisina, y depositadas sobre algún material de transporte (como un apósito vaselinizado), para su posterior trasplante. Mediante esta técnica, se pueden llegar a conseguir hasta 10000 cm<sup>2</sup> partiendo de una biopsia de piel sana de 1 cm<sup>2</sup>.

Los autoinjertos epidérmicos están disponibles comercialmente desde 1988. Epicel® es un autoinjerto epidérmico cultivado a partir de una biopsia del paciente, que requiere aproximadamente 16 días para su obtención.

Aunque los autoinjertos epidérmicos son de-

finitivos y salvan la vida del paciente, presentan el inconveniente de que requieren mucho tiempo para su obtención. Con la finalidad de evitar ese problema, se desarrollaron los cultivos de células epidérmicas de donantes alogénicos, a partir de queratinocitos y fibroblastos del prepucio neonatal, con gran capacidad de proliferación (Apligraf®). El inconveniente es que ofrece una cobertura temporal.

Aunque los autoinjertos de piel cultivada son permanentes y pueden salvar la vida del paciente, también presentan ciertos inconvenientes que han restringido su utilización. El tiempo necesario para su obtención y el coste elevado son factores limitantes. La lámina de piel que se obtiene es demasiado fina y frágil, lo que le hace muy sensible a pequeños traumatismos. Son muy sensibles a la infección de los lechos de implantación, así como a la utilización de los antisépticos utilizados en los pacientes quemados. Además, los queratinocitos obtenidos carecen de adhesividad, por lo que los injertos presentan gran inestabilidad mecánica. El prendimiento de los injertos obtenidos mediante esta técnica es muy variable, describiéndose pérdida de los mismos incluso a medio-largo plazo.

En un intento de acortar la demora en el tratamiento y solventar los problemas de prendimiento y dificultad en el transporte, se crearon los cultivos de queratinocitos en estado de preconfluencia. Este sistema consiste en el cultivo de colonias de queratinocitos autólogos del paciente en una membrana biocompatible y biodegradable, que es implantada en el lecho de la herida antes de que los queratinocitos formen láminas, alcanzando la confluencia *in vivo*. Este sistema aporta estructura y estabilidad (no precisa de la utilización de encima para su separación del soporte) y disminuye la fragilidad del injerto, haciéndolo más fácil de manipular.

Sin embargo, se ha demostrado ante una pérdida de espesor total de la piel, la asociación de componente dérmico es fundamental, pues se obtienen mejores resultados clínicos y estéticos. En las quemaduras profundas, la reparación de la dermis se lleva a cabo mediante la formación de tejido de granulación y posterior tejido cicatricial, carente de elasticidad y proclive a la contractura. La dermis aporta un soporte estructural y un medio más adecuado para la preservación de las células madre cutáneas y la formación de la membrana basal

epidérmica, aumentando la estabilidad y durabilidad de los injertos.

Para añadir el componente dérmico se han seguido básicamente tres vías diferentes; 1) continuar con el empleo de cultivo de queratinocitos, asociado al trasplante previo de un componente dérmico en el paciente, por ejemplo aloinjertos de cadáver o imitadores dérmicos, 2) cultivar los queratinocitos sobre un soporte y 3) cultivar los queratinocitos sobre una dermis artificial o equivalente dérmico (piel autóloga completa).

Las técnicas y características para la obtención de sustitutos cutáneos dermoepidérmicos serán descritas en sucesivos números de la revista.

#### Más información en:

Balasubramani M, Kumar TR, Babu M. Skin substitutes: a review. Burns 2001;27: 534-44.

Atiyeh BS, Costagliola M. Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: Three decades later. Burns 2007;33: 405-13.

Navsaria HA, Myers SR, Leigh IM, et al. Culturing skin in Vitro for wound therapy. Trends Biotechnol 1995;13:91-100.

Bello G, Merentes E, Arvelo F. Cultivo de queratinocitos humanos in Vitro. Gac Méd Caracas 1998;106:491-95.