



CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO

TESIS:

**USO DE MATRIZ EXTRACELULAR DERIVADA DE LA
VEJIGA DE CERDO PARA ACELERAR CIERRE Y
CICATRIZACIÓN DE FISTULAS ENTEROCUTÁNEAS:
MODELO EXPERIMENTAL EN RATAS
PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN CIRUGÍA
GENERAL**

PRESENTA

**VÍCTOR USAMAH CALDERA SABAG
PARA OBTENER EL GRADO EN CIRUGÍA GENERAL**

TUTORES

DR. Y MC. EFRÉN FLORES ÁLVAREZ

**PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD DE CIRUGÍA GENERAL DEL
CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO**

DR. JOAQUÍN ÁLVARO VICTORIA HERNÁNDEZ

MEDICO PATÓLOGO DEL CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO

Aguascalientes, Ags., 26 de enero de 2016



UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE AGUASCALIENTES

VÍCTOR USAMAH CALDERA SABAG
ESPECIALIDAD EN CIRUGÍA GENERAL
P R E S E N T E

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que su trabajo de tesis titulado:

“USO DE MATRIZ EXTRACELULAR DERIVADA DE LA VEJIGA DE CERDO PARA ACELERAR CIERRE Y CICATRIZACIÓN DE FISTULAS ENTEROCUTÁNEAS: MODELO EXPERIMENTAL EN RATAS”

Ha sido revisado y aprobado por su tutor y consejo académico, se autoriza continuar con los trámites de titulación para obtener el grado de:
Especialista en Cirugía General

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“SE LUMEN PROFERRE”
Aguascalientes, Ags., 27 de Enero de 2016.

DR. RAÚL FRANCO DÍAZ DE LEÓN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD



CARTA DE LIBERACION

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente informo que asesoré y revisé el trabajo de tesis del DR. VICTOR USAMAH CALDERA SABAG, residente del cuarto año del servicio de Cirugía General del Centenario Hospital Miguel Hidalgo, titulado: "USO DE MATRIZ EXTRACELULAR DERIVADA DE LA VEJIGA DE CERDO PARA ACELERAR CIERRE Y CICATRIZACION DE FISTULAS ENTEROCUTANEAS" el cual autorizo su impresión para la terminación de su especialidad.

Sin más por el momento


DR. EFRÉN FLORES ALVAREZ
Cirujano Oncólogo
Asesor

Aguascalientes, Ags. Enero de 2016

c.c.p. Dr. Felipe de Jesús Flores Parkmann Sevilla. Jefe de Enseñanza e investigación del C.H.M.H.





CARTA DE LIBERACIÓN

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente informo que asesoré y revisé el trabajo de tesis del DR. VICTOR USAMAH CALDERA SABAG, residente del cuarto año del servicio de Cirugía General del Centenario Hospital Miguel Hidalgo, titulado: "USO DE MATRIZ EXTRACELULAR DERIVADA DE LA VEJIGA DE CERDO PARA ACELERAR CIERRE Y CICATRIZACION DE FISTULAS ENTEROCUTANEAS" el cual autorizo su impresión para la terminación de su especialidad.

Sin más por el momento


DR. J. ALVARO VICTORIA HERNÁNDEZ

Patólogo

Asesor

Aguascalientes, Ags. Enero de 2016

c.c.p. Dr. Felipe de Jesús Flores Parkmann Sevilla. Jefe de Enseñanza e investigación del C.H.M.H.



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer infinitamente a mis padres que siempre son un apoyo importante en mi vida, cada decisión, acción y consecuencia de las mismas se encuentra respaldada por ellos, Mi madre Sofía Sabag Hamadani por enseñarme que ante adversidades y situaciones difíciles no debemos doblegarnos, y que contra todo pronóstico se puede salir adelante no importa que tan duro o difícil parezca, por enseñarme esa increíble fuerza interior gracias madre, te amo.

A mi padre Víctor Caldera Rodarte el cual con sus consejos y sus lecciones me enseñó que esta carrera no es solo ciencia y objetividad, sino comprensión amor y cariño al prójimo, gracias por sembrar en mi esa hambre de curar, de ayudar y sobre todo de hacer las cosas con alegría y entusiasmo lo cual hizo más amena esta travesía escabrosa.

Gracias a Marlene Galaviz García mi fiel y amada esposa, gracias amor por todo el apoyo, la paciencia, fuerza de voluntad y comprensión que me diste estos 4 años, sin ti esto no hubiera sido posible, la seguridad que me brindaste y el consuelo cada vez que lo necesite, es algo por lo que estaré eternamente agradecido.

A mi Hija Dalal Hamadani Caldera Galaviz; que es mi más grande inspiración, la cosa más perfecta que he visto, cada día al despertar pienso cómo hacer para que mis acciones impacten en tu bienestar, gracias por darme ese amor tan puro, por esperarme estos cuatro años mi querida princesa. ANA BAHEBEK KTEER HABIBTE.

A mis hermanos menores de los cuales estoy completamente orgulloso Amira Hadisye Caldera Sabag, Yousseph Eibrajim Caldera Sabag, Luis Jorge Caldera Sánchez, Miguel Eduardo Caldera Sánchez, a mi querido sobrino Kamil Alejandro Caldera Narváez a mi Suegra Araceli García Mayorga, y muy especialmente a Mi suegro Miguel Galaviz García (Don Mike) que seguramente nos ve y cuida desde un mejor lugar gracias por todo don Mike, mis cuñados Jessica Vanesa Galaviz García, Edgar Miguel Galaviz García.

A mi abuela Mamina Sabag Hamadani una extraordinaria mujer, con los mejores consejos para la vida y a toda mi familia y seres queridos que en este momento vienen a mi mente sin embargo es difícil mencionarlos a todos. Pero ustedes saben que los quiero.

A mi amigo y colega Javier Ortiz Hernández (Kacho) el cual me apoyo mucho en el desarrollo de esta tesis, e independientemente de la ayuda para esta tesis, siempre ha sido un excelente persona y amigo.

A todos mis profesores titulares, A mis compañeros, y amigos Alejandro Figueroa García, Felipe Nares López, Georgina Méndez Esparza, José Pérez Yáñez, Ramiro Gómez Arambulo, José Nava, Gerardo Sánchez Miranda, David Martínez Velázquez, Octavio Galeana Maya, Javier Águila Andrade, David Ponce, Aurelio Ponce, Sergio Reyna, Josué Olivares, Roberto Díaz Y a los cirujanos recién egresados David Roldan, Adrián Díaz, Daniel Fernández, Ángel Posadas, Claudia Barba Valadez, Antonio Vázquez García, Baltazar López Rosales, Jorge Alberto Ocon Rodríguez y Abraham Solís Villarroel, a todos ellos agradezco sus enseñanzas la paciencia y los buenos consejos que aportaron a mi formación quirúrgica, en especial a mi amigo Alejandro Palafox Hernández que aun continua en su travesía mediante la cual llegara a ser un excelente cirujano Plástico.

A mis compañeros y amigos Francisco Castañeda Reza Aarón Zúñiga Hernández los únicos que me acompañaron hasta el final en esta etapa tan importante de mi vida.

Francisco, siempre tranquilo, tolerante, con la calma necesaria para hacer las cosas de una manera segura y efectiva, excelente compañero, muy buen amigo en las buenas y las malas, mis respetos como padre y esposo, gracias Paco por todo el apoyo y animo, a pesar de no conocernos antes de todo esto creo que nos espera una larga amistad.

Aarón, no he conocido persona con más tesón y perseverancia, lo cual lo llevo a conseguir un premio nacional, (y es mi amigo) a pesar de tan criticado proyecto, como compañero Aarón es puro corazón, siempre defendiendo a sus compañeros y ayudando en cuanto hacía falta, mejores compañeros no pude haber pedido, al igual que con todos mis compañeros esto es el comienzo de una buena y duradera amistad.

Toda esta hermosa carrera no hubiese sido posible si no es por todos los pacientes que son quienes más me enseñaron así que agradezco mucho a todos ellos, gracias por ser el más extenso y fidedigno libro de igual manera agradezco a todo el personal del hospital Centenario Miguel Hidalgo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
INDICE DE CUADROS Y GRAFICOS	2
ÍNDICE DE FIGURAS	2
ACRÓNIMOS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
1 MARCO TEORICO.....	7
1.1 FISTULA ENTEROCUTÁNEA	7
1.1.1 DEFINICIÓN	7
1.1.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	7
1.1.3 ETIOLOGÍA.....	8
1.1.4 FISIOPATOLOGÍA	9
1.1.5 CUADRO CLÍNICO Y MÉTODOS DIAGNOSTICOS	10
1.1.6 TRATAMIENTO	11
2 COMPLICACIONES PRONOSTICO Y CASUÍTICA DE FISTULAS ENTEROCUTANEAS.....	15
2.1 COMPLICACIONES.....	15
2.2 MORTALIDAD.....	15
2.3 CASUÍSTICA EN CENTRO MEDICO NACIONAL	16
2.4 PRONÓSTICO	16
3 MATRIZ EXTRACELULAR Y CICATRIZACIÓN	18
3.1 DESCRIPCION DE MATRIZ EXTRACELULAR.....	18
3.2 ASPECTOS BIÓLOGICOS Y FUNCIONALES DE LA MATRIZ EXTRACELULAR	18
3.3 DINÁMICA LIFOCITARIA SOBRE LA MATRIZ EXTRACELULAR.....	20
3.4 BIOTENSEGRIDAD O EN PODER DE LA MATRIZ EXTRACELULAR	21
3.5 MECANOTRANSDUCCIÓN	23
3.6 INTEGRINAS	26
3.7 FLUJO ENERGÉTICO DE LA MATRIZ EXTRACELULAR	27
4 CICATRIZACIÓN.....	29
4.1 FASES DE LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS.....	31
5 METODOLOGÍA	39
5.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	39
6 JUSTIFICACIÓN	40
7 MATERIALES Y MÉTODOS	40
7.1. DISEÑO METODOLÓGICO	40
7.2. UNIVERSO DE ESTUDIO	40
7.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	41
7.4 DISTRIBUCION DE GRUPOS.....	42
7.5 DISEÑO ESTADÍSTICO	47
8 RESULTADOS	48
9 DISCUSION DE RESULTADOS.....	55
10 CONCLUSIONES.....	57
11 GLOSARIO.....	58
BIBLIOGRAFÍA	61

INDICE DE CUADROS Y GRAFICOS

CUADRO 1.- PROLIFERACION VASCULAR 53
 CUADRO 2.- FIBROSIS ESTROMAL..... 53
 CUADRO 3.- PROCESO INFLAMATORIO 53
 CUADRO 4.- RESOLUCIÓN CUTAÁNEA..... 54
 CUADRO 5.- REACCIÓN GRANULOMATOSA 54
 CUADRO 6.- PRUEBAS ESTADISTICAS 54

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.- ESTRUCTURA DE MATRIZ EXTRACELULAR 19
 FIGURA 2.- FRASCO DE KETAMINA 42
 FIGURA 3.- AMPULA DE MIDAZOLAM 42
 FIGURA 4.- EVISCERACIÓN CON EXPOSICIÓN DE CIEGO..... 42
 FIGURA 5.- COLOCACIÓN DE PUNTO EN BORDE ANTIMESENTÉRICO 42
 FIGURA 6.- INSICIÓN ADVERTIDA DE CIEGO CON EXPOSICION DE MUCOSA..... 43
 FIGURA 7.- FISTULA ENTEROCUTÁNEA CON GASTO FECAL 43
 FIGURA 8.- MATRIZ EXTRACELULAR LIOFILIZADA 44
 FIGURA 9.- MATRIZ EXTRACELULAR CON DILUYENTE 44
 FIGURA 10.- MATRIZ EXTRACELULAR EN VIAL PARA DILUCIÓN CON 10 ML..... 44
 FIGURA 11.- APLICACIÓN DE MATRIZ EXTRACELULAR EN FISTULA ENTEROCUTÁNEA... 45
 FIGURA 12.- DEMOSTRACIÓN DE FISTULA ENTEROCUTÁNEA..... 45
 FIGURA 13.- PIEZA QUIRURGICA DE FISTULA ENTEROCUTÁNEA 45

ACRÓNIMOS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AF	Adhesiones focales
CAM	Moléculas de adhesión celular
CD99	Cluster of differentiation 99
<i>et al</i>	Y colaboradores
gr	gramo
GAG	glicosaminoglucanos
GP	Glucoproteínas
ICAM1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IL-1	Interlecina 1
Kda	Kilodalton
KPa	Kilopaskal
LFA1	Antígeno Asociado a la Función Leucocitaria
MEC	Matriz extracelular
PDGF	Platelet derived growth factor
PG	proteoglicanos
PMN	Polimorfonucleares
TGFB	Transforming growth factor beta
TNFa	Factor de necrosis tumoral alfa
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecules
VEGF	Vascular endotelial Growth factor
VLA	Very low activation

RESUMEN

Introducción: Una fistula es la comunicación anormal y bien establecida entre dos superficies epitelizadas: a fistula enterocutánea como su nombre lo dice es la comunicación entre la superficie epitelizada del intestino y la de la piel. Esta complicación se asocia con una alta morbilidad y mortalidad convirtiéndose en uno de los más temibles complicaciones en el ámbito quirúrgico, con un difícil manejo, en la actualidad se cuenta con muchas herramientas para su manejo sin embargo no contamos con un manejo definitivo en cuestión al cierre y mejorar la evolución natural de esta enfermedad, la matriz extracelular se ha utilizado ampliamente para favorecer la cicatrización de heridas, cuenta con una gran biocompatibilidad siendo usada en injertos para cirugía vascular, cardíaca y en hernias.

Material y métodos: en 12 ratas tipo wistar se conforman 2 grupos de 6; control y experimental, a ambos grupos se les creó una fistula enterocutánea. Aplicando matriz extracelular al grupo experimental sobre la fistula para acelerar la cicatrización de esta.

Resultados: Todos los individuos de estudio fueron ratas adultas, la media del peso fue de 267.6gr y 272gr para el grupo control y experimental respectivamente, se presentó el cierre espontáneo en \bar{X} 19.3 y \bar{X} 13.6 un rango de 12-16 días y 18-20 días, para el grupo control y experimental ambos respectivamente con un valor $P < .01$.

En los resultados histopatológicos la resolución cutánea se presentó en ambos grupos, la fibrosis estromal; fibrosis leve (+); 0 (0%) / 3 (50%), fibrosis moderada (++) 5 (83,3%)/ 3 (50%) fibrosis severa (+++) 1 (16.7%) / 0 (0%) grupo control y experimental respectivamente. La proliferación vascular; leve (+) 4 (66.7%) / 6 (100%) grupo control y experimental respectivamente. proceso inflamatorio; leve 4 (66.7%) / 4 (66.7%), moderado 2 (33.3%) / 2 (33.3%). Lumen residual fistuloso residual submucoso 2 (33.3%), residual hasta muscular de la mucosa 1 (16.7%) y sin trayecto residual 3 (50%), en el grupo experimental el lumen residual fistuloso; lumen residual submucoso 2 (33.3%), 4 (66.7%) sin lumen residual. Con un Valor $P < 0.5$

Conclusión: la matriz extracelular acelera el cierre en días de las fistulas enterocutáneas, y mejora algunos aspectos microscópicos de la cicatrización por lo que parece ser una opción para mejorar el tiempo en cierre de fistulas enterocutáneas, sin embargo estamos obligados a realizar más estudios con mayor impacto y fuerza estadística.

ABSTRACT

BACKGROUND: a fistula is an abnormal and well established communication between two epithelized surfaces: a enterocutaneous fistula as its name suggests is a communication between the epithelized surface of de intestine and the skin, this complication is associate with high morbidity and mortality becoming one of the most feared complications in the surgical field. Today there are a many tools for the management of fistulas, but do not have a definitive management within the closing and improve the natural history of the disease. Extracellular matrix has been widely used to promote wound healing, it has a large biocompatibility being used in grafts for vascular surgery cardiac and hernias abnormal.

METHODS: In 12 rats, 2 groups of 6 rats, was created; control and experimental, in both groups were created an enterocutaneous fistula. Extracellular matrix applied to the experimental group on the fistula to accelerate healing.

RESULTS: All were adult rat, the mean weight was 272 gr and 267.6 gr for the control and experimental group respectively, showed spontaneous closure in \bar{X} 19.3 and \bar{X} 13.6 a range of 12-16 days and 18-20 days, for control and experimental group respectively with a P Value <.01.

Histopathological findings; skin resolution occurred in both groups, the stromal fibrosis; mild fibrosis (+); 0 (0%) / 3 (50%), moderate fibrosis (++) 5 (83.3%) / 3 (50%) severe fibrosis (+++) 1 (16.7%) / 0 (0%) control and experimental group respectively. The vascular proliferation; mild (+) 4 (66.7%) / 6 (100%) control and experimental group respectively. inflammatory process; mild 4 (66.7%) / 4 (66.7%), moderate 2 (33.3%) / 2 (33.3%). Fistulous residual lumen; submucosal 2 (33.3%), beyond muscularis mucosae 1 (16.7%) and no residual path 3 (50%) in the control group, the fistulous residual lumen in the experimental group was; submucosal residual lumen 2 (33.3%), and 4 (66.7%) for no residual lumen.

With a value of P <0.5.

CONCLUSION: The extracellular matrix accelerates the closing in days of enterocutaneous fistulas, and improves some microscopic aspects of healing, for what appears to be an option to improve the closing time of enterocutaneous fistulas, anyway this study suggests, its necessary more extensive study to apply this method in humans.

INTRODUCCIÓN

Las fístulas enterocutáneas es un problema grave que puede enfrentar cualquier cirujano durante el ejercicio de su profesión, con repercusiones físicas y emocionales grandes, tanto para el paciente y sus familiares como para el médico y la institución de salud donde se trata. El tratamiento puede ser extremadamente complejo y requiere de una intervención multidisciplinaria adaptada para cada caso en particular.

El 75-90% de las fístulas se presenta como una complicación postoperatoria, con una incidencia de 0,8-2% en las cirugías abdominales.

Se atribuye a las fístulas intestinales una mortalidad del 5 al 20%, cifra demasiado elevada si tenemos en cuenta que cirugías de gran magnitud como la duodenopancreatectomía, la hepatectomía, la esofagectomía y una complicación grave como lo es la lesión de vía biliar presentan tasas inferiores al 10%. Además, cuando la fístula coexiste con factores agravantes tales como la sepsis, la desnutrición, el desequilibrio hidroelectrolítico entre otros, la mortalidad asciende aún más y puede superar, a veces, el 60%.

El aumento de la expectativa de vida y el avance de la Cirugía en el tratamiento de padecimientos cada vez más complejos, debe contribuir en un futuro, a un considerable incremento en su frecuencia de aparición. .

A pesar de los avances logrados en el cuidado de estos pacientes, el desarrollo de esta complicación coloca al médico ante una situación compleja y de difícil tratamiento. Por esta razón, es el propósito de la presente contribución buscando nuevos enfoques terapéuticos, para esta enfermedad tan complicada y de difícil manejo.

Por otro lado la matriz extracelular se ha empleado en muchas prótesis, injertos etc. Dando resultados favorables como prótesis de pared abdominal e injerto vascular entre otros, los avances tecnológicos han permitido conocer más a fondo las múltiples funciones así como la estructura de la matriz extracelular, es muy evidente la participación que tiene en el proceso de cicatrización y regeneración de tejido, es por eso que en este estudio se pretende demostrar la eficacia para acelerar la cicatrización ante una fistula enterocutánea.

1 MARCO TEÓRICO

1.1 FISTULA ENTEROCUTÁNEA

1.1.1 DEFINICIÓN

Se define a la fístula como una comunicación anormal entre dos superficies epitelizadas, es decir entre dos órganos huecos o bien entre un órgano hueco y la piel. Cuando una de las áreas comprometidas es del tracto digestivo se denomina fístula gastrointestinal. Se trata de una estructura integrada, habitualmente, por dos orificios y un trayecto intermedio. No obstante existen algunas variantes en las que las superficies mencionadas se conectan solamente, a través de un orificio en común. Es el caso de las fístulas intestinales internas o el de las fístulas externas "labiadas", donde la mucosa del asa intestinal involucrada se halla visiblemente expuesta en la superficie cutánea o bien, en una herida laparotómica como en el caso de las recientemente denominadas fístulas enteroatmosféricas.

1.1.2 EPIDEMIOLOGÍA

En México es difícil encontrar cifras de la frecuencia de fístulas enterocutáneas porque, al considerarlas un fracaso del acto quirúrgico y una catástrofe para el paciente, el cirujano no informa sus casos. No obstante, quien opera el tracto digestivo observará en su vida profesional esta desagradable complicación. Se calcula que en Norteamérica se presentan 20 000 casos de fístulas enterocutáneas por año y que 2 a 5% del total de pacientes que se somete a operaciones gastrointestinales puede desarrollar una fístula.

A continuación se menciona la etiología y frecuencia de las fístulas enterocutáneas de acuerdo con el órgano afectado:

1. Fístulas esofágicas. Las causas adquiridas más frecuentes incluyen las posoperatorias, maniobras instrumentales endoscópicas, traumatismos y lesiones malignas (78% de las fístulas se debe a cáncer esofágico).
2. Fístulas gástricas. Ochenta y cinco por ciento son iatrogénicas y 15% de origen primario. Las resecciones gástricas por cáncer muestran fuga anastomótica en 5 a 10% de los casos y tienen una mortalidad de 50 a 75%, que disminuye hasta 23% en pacientes que reciben nutrición parenteral.

3. Fístulas duodenales. Estas fístulas son secundarias a intervenciones quirúrgicas en órganos vecinos o del mismo duodeno en 85%; el restante 15% es resultado de traumatismos, enfermedad ulcerosa y cáncer. La mortalidad global, con independencia de la causa, es de 30 por ciento.
4. Fístulas yeyuno-ileales. Setenta a 90% es de origen posquirúrgico y 15 a 20%, espontáneas, secundarias a enfermedad de Crohn (5 a 50%), cáncer (2 a 15%), úlcera péptica (3 a 6%) y pancreatitis (3 a 10%). Son fístulas de alto gasto en 50% de los pacientes y su mortalidad es de 15 a 25%. Cuarenta a 70% de estas fístulas experimenta cierre espontáneo, mientras que 15 a 80% requiere cierre quirúrgico.
5. Fístulas de colon. El trastorno que con mayor frecuencia implica en el desarrollo espontáneo de estas fístulas es la enfermedad diverticular (20% lo conforman fístulas internas; 65%, colovesicales, y 25%, colovaginales) y 5 a 10% es secundario a radioterapia.

1.1.3 ETIOLOGÍA

Las fístulas enterocutáneas pueden ser congénitas y adquiridas. Las primeras se deben a defectos en el desarrollo del embrión y requieren tratamiento quirúrgico en la etapa inicial de la vida. en esta tesis nos enfocaremos principalmente en las fístulas adquiridas; 35% es secundario a fallas en las suturas intestinales, 30% a lesiones inadvertidas al drenar abscesos y realizar lisis de adherencias, 10% a laceraciones intestinales transoperatorias resueltas con o sin sutura y 7% a dehiscencia del muñón apendicular; es decir, 82% es resultado de manipulación quirúrgica de los intestinos. El restante 18% es resultado de procesos inflamatorios, radioterapia o tumores intestinales. Los factores que influyen en forma decisiva en la aparición de las fístulas enterocutáneas incluyen: presencia de sepsis abdominal, reintervenciones quirúrgicas múltiples, manipulación excesiva de los intestinos, calidad del riego sanguíneo intestinal, anastomosis con técnica deficiente, tipo de suturas empleado, presencia de enfermedad residual (inflamatoria, por radioterapia o neoplásica), dehiscencia de la pared abdominal, condiciones nutricionales del paciente y, en particular, la experiencia del cirujano.

Factores que influyen en forma negativa en el cierre de una fístula entérica	
Factores del paciente	
Nutrición deficiente	
Medicamentos, como esteroides	
Factores etiológicos	
Fístula maligna	
Fístula relacionada con enfermedad de Crohn	
Fístula en campos sometidos a radiación	
Sitio de la fístula	
Gástrica	
Duodenal	
Factores locales	
Persistencia de inflamación local y sepsis	
Presencia de cuerpo extraño (p. ej., mallas o suturas)	
Epitelización del trayecto fistuloso	
Trayecto fistuloso <2 cm	
Obstrucción distal al sitio de la fístula	

TABLA 1.- factores en contra para el cierre de una fístula entérica

1.1.4 FISIOPATOLOGÍA

Las fístulas enterocutáneas son el resultado de anastomosis o laceraciones intestinales que experimentan hipoxemia e inflamación de la pared intestinal. No hay duda de que desde el punto de vista técnico, unos bordes anastomóticos mal irrigados, un material de sutura inadecuado, el no tomar la submucosa en la anastomosis y unos puntos que estrangulen favorecen el desarrollo de fístulas enterocutáneas. Otro factor determinante es un estado nutricional deficiente, ya que conduce a edema de los tejidos y cicatrización deficiente, con disminución en la fuerza tensil de las anastomosis. La pérdida del contenido intestinal por el sitio de la fístula se refleja en deshidratación y desequilibrio electrolítico y acido-básico cuya intensidad depende del volumen y las características del líquido que se pierde. También deben tomarse en cuenta las características cáusticas de las secreciones digestivas que al contacto con la piel la queman y pueden ocasionar destrucción importante de la pared abdominal. Al mismo tiempo, como el paciente no puede o no debe comer, su estado nutricional empeora con el transcurso de los días y semanas, lo que dificulta el cierre espontáneo de la fístula e incrementa la morbilidad y mortalidad. Si además existe sepsis abdominal, el catabolismo del paciente aumenta y se presentan una respuesta neuroendocrina al traumatismo y la liberación de múltiples mediadores inflamatorios que evolucionan a hemorragia del tracto digestivo e insuficiencia orgánica múltiple, que llevan al paciente a un círculo vicioso imposible de romper y que culmina con su fallecimiento.

1.1.5 CUADRO CLÍNICO Y MÉTODOS DIAGNOSTICOS

CUADRO CLÍNICO:

Cuando una fístula enterocutánea va a desarrollarse, el posoperatorio suele evolucionar con íleo persistente, dolor abdominal, intolerancia oral, fiebre, taquicardia y por la herida o alguno de los drenajes o sondas colocadas por contraabertura de la pared abdominal se observan signos de inflamación con el posterior gasto de contenido intestinal, gas o ambos. Al principio puede confundirse con infección de la herida quirúrgica, sobre todo en presencia de otras causas de flujo de líquido anormal por dichos sitios, como ascitis por evisceración, hipertensión portal, pancreatitis o hematomas, seromas o abscesos subcutáneos. Sin embargo, el cirujano debe analizar el tipo de operación realizado y tener siempre en mente la posibilidad de esta desagradable complicación. El líquido que drena puede orientar al sitio anatómico fistulizado; por ejemplo: el de esófago es tipo salival, el de estómago también es mucoso y quema la piel por su acidez y el de duodeno o de la vía biliar es dorado o amarillo-verdoso; el de yeyuno alto es líquido verdoso con grumos, el de íleon terminal tiende a ser semilíquido, color mostaza o café, y el de colon es de aspecto, color y olor fecaloides. Una forma de confirmar con rapidez una fístula enterocutánea, en particular de esófago, estómago, duodeno y yeyuno, es la instilación de azul de metileno por vía oral, el cual aparecerá por el drenaje de la fístula; no obstante, debe recordarse que el azul de metileno se absorbe en las partes altas del tracto digestivo y es posible que no llegue al sitio de las fístulas de íleon y colon. Las fístulas colovesicales se manifiestan con cistitis, hematuria, fecaluria, fiebre, diaforesis y escalofríos.

EXÁMENES DE LABORATORIO

Los estudios de laboratorio son parte fundamental del abordaje diagnóstico y terapéutico de las fístulas enterocutáneas y sus complicaciones; pueden agruparse de la siguiente manera:

Exámenes básicos.

Biometría hemática completa; glucosa, urea y creatinina; sodio, potasio, cloro y CO₂; proteínas totales, albúmina y globulina; tiempos de coagulación, y examen general de orina.

Exámenes especiales.

Se solicitan para evaluar algunas complicaciones: pruebas de función hepática (transaminasas, fosfatasa alcalina, bilirrubinas, colesterol); gasometría arterial; calcio, fósforo, magnesio, cinc, cobre, hierro, y depuración de creatinina.

IMAGENOLÓGÍA

Puede afirmarse que el estándar de oro para diagnosticar una fístula enterocutánea es la fistulografía, que consiste en inyectar medio de contraste por el orificio externo del trayecto

fistuloso, tras lo cual los rayos X muestran el trayecto fistuloso y la luz intestinal. Otra forma de identificar el sitio fistulizado es mediante un esofagograma o una serie gastroduodenal (para fístulas de esófago, estómago y duodeno), un tránsito intestinal (para yeyuno-íleon) o un colon por enema (para colon y recto). Vale la pena mencionar que el bario se adhiere mejor a las paredes del intestino, no así el material de contraste hidrosoluble. La colangiografía retrógrada endoscópica es útil para valorar fístulas duodenales y pancreáticas. La urografía excretora y la cistografía son útiles en fístulas enterovesicales. Tanto la tomografía axil por computadora como el ultrasonograma permiten diagnosticar abscesos intraabdominales relacionados en 15 a 44% de las fístulas enterocutáneas y en 80% de los casos permiten su drenaje percutáneo.

1.1.6 TRATAMIENTO

TRATAMIENTO MÉDICO

El tratamiento es complejo y se requiere un grupo multidisciplinario para implementarlo. El tratamiento médico puede dividirse en cuatro momentos:

1 Tratamiento de rescate.

En la primera fase o de reanimación, el manejo de líquidos y electrolitos es primordial ya que el paciente presenta colapso circulatorio secundario a pérdida de volumen por la fístula, cambios homeostáticos del posoperatorio, secuestro por sepsis abdominal e íleo con malabsorción intestinal. Deben corregirse los líquidos corporales, las alteraciones electrolíticas y el desequilibrio acido-básico, sobre todo la acidosis metabólica. En los casos de fístulas de gasto alto, como intento de evitar el desequilibrio hidroelectrolítico se han buscado mecanismos para reinfundir las pérdidas de las secreciones digestivas; sin embargo, hasta el momento no existe un método adecuado.

2 Cuidados de la piel.

Las características de acidez o alcalinidad de las secreciones del tracto digestivo demandan buscar alternativas para contenerlas y cuantificarlas, a la vez que evitar su contacto con la piel. Para ello deben utilizarse con ingenio los materiales disponibles, como bolsas colectoras que se adhieren a la piel periférica por donde drena la fístula. Si esto no es posible, la piel que rodea el sitio del drenaje fistuloso se cubre con pastas protectoras de Lassar, aluminio, karaya o productos sintéticos protectores de la piel, las cuales pueden encontrarse naturales o industrializadas. En ocasiones la piel periférica a los sitios fistulosos está ya quemada y las heridas de intervenciones quirúrgicas previas condicionan una

superficie irregular y difícil de cubrir; allí es donde el ingenio y la experiencia deben ayudar a fin de evitar una mayor lesión de la pared abdominal. Cabe destacar que si estas lesiones se cubren y se venda al paciente, se favorece que las compresas, al impregnarse de los líquidos intestinales, lesionen amplias zonas de piel sana. Por tanto, si no es posible controlar las fístulas con bolsas, es preferible dejar expuesta toda la lesión y crear mecanismos de succión que impidan al máximo el contacto de las secreciones con la piel. Recuérdese también que si las asas intestinales se encuentran expuestas, pueden lacerarse y perforarse, y que las sondas de aspiración en contacto directo con las asas intestinales puede lesionarlas.

3 Diagnóstico preciso.

Una vez que el paciente se halla hemodinámicamente estable y con los cuidados cutáneos pertinentes, el esfuerzo se enfoca en identificar con precisión el sitio y las características morfológicas de la fístula. Como se señaló antes, la ayuda de las imágenes es fundamental.

4 Apoyo nutricional.

El factor aislado más importante que contribuye al éxito en las fístulas enterocutáneas es el tratamiento nutricional adecuado y sostenido por medio del cual se aportan sustratos nutricios que favorecen la recuperación y cicatrización de los tejidos y mantienen al paciente metabólicamente estable. En aquellos en los que el cierre espontáneo de la fístula no ocurre, el apoyo nutricional, además de brindar suficiente aporte calóricoproteínico, pretende regular la respuesta neuroendocrina e inflamatoria, con lo que el paciente pueda tolerar actos quirúrgicos futuros. Los pacientes con fístula de gasto alto deben recibir nutrición parenteral y tan pronto se complete la fase de reanimación y se investigue si existe un segmento de intestino funcional, puede usarse la alimentación enteral; en otras palabras, se tiende a usar de manera preferente nutrición mixta (enteral y parenteral).

Nutrición parenteral

En condiciones ideales debe insertarse un catéter central por punción percutánea subclavia o por venodisección cefálica o de yugular externa, avanzando su extremo distal hasta la vena cava superior porque se requiere una vena de grueso calibre y flujo rápido debido a la alta osmolaridad y acidez de las mezclas de alimentación parenteral. El cálculo de los requerimientos energéticos puede obtenerse por calorimetría indirecta o mediante la fórmula de Harris-Benedict, y los requerimientos de proteínas, sobre la base de las pérdidas nitrogenadas en orina de 24 h y

adicionar los electrolitos, vitaminas y minerales de acuerdo con los controles bioquímicos y clínicos. Un microelemento de gran importancia en las fístulas enterocutáneas es el cinc, el cual se pierde a razón de 17 mg/L.

Nutrición enteral

En pacientes con fístulas de bajo gasto y de colon o recto debe utilizarse como primera opción el tracto gastrointestinal para proporcionar los nutrimentos, ya sea por vía oral o por sonda. En fístulas proximales (esófago, estómago, duodeno, biliares y de páncreas) puede utilizarse una sonda nasoyeyunal, siempre y cuando se "salte" el segmento fistuloso. También es posible alimentar al paciente mediante una sonda de gastrostomía o yeyunostomía, según el sitio de la fístula. En contados casos el mismo orificio fistuloso puede servir para introducir una sonda delgada a fin de infundir la fórmula enteral. Las preparaciones industrializadas existentes, poliméricas, oligoméricas y elementales, permiten tener fórmulas químicamente definidas y completas, que se absorben en segmentos limitados del intestino; además son de manejo fácil y causan complicaciones controlables. Un nutrimento que en la actualidad se administra en dosis mayores es la glutamina, el aminoácido más abundante en la economía, pero que en el enfermo crítico es requerido y debe suplementarse porque se rebasa su producción. Es un combustible clave para la mucosa intestinal, las células endoteliales, los túbulos renales, los linfocitos y los fibroblastos, y además aumenta la síntesis proteínica muscular y mejora el balance de nitrógeno; todo esto puede evitar la atrofia de las vellosidades intestinales secundaria al ayuno y que se complica con translocación bacteriana.

Terapéutica coadyuvante

Se refiere a medicamentos que disminuyen el tránsito intestinal y sus secreciones, como la loperamida, que disminuye la motilidad intestinal y permite una mejor absorción de los nutrimentos, y los bloqueadores H₂ o los inhibidores de la bomba de protones, que disminuyen las secreciones gástricas. El octreótido de la somatostatina es un potente inhibidor de las secreciones endocrinas y exocrinas gastrointestinales, inclusive la gastrina, el ácido gástrico y el jugo pancreático, promueve la absorción de agua y electrolitos por el intestino y disminuye la motilidad intestinal; todos estos efectos reducen de manera drástica el gasto de las fístulas y en ocasiones aumentan la frecuencia de su cierre espontáneo, además de reducir el tiempo del cierre y de hospitalización. Aunque todavía no se alcanza un consenso definitivo para el uso del octreótido de la somatostatina, el hecho de que cambie una fístula enterocutánea de alto a bajo gasto justifica su indicación. Por otro lado, la hormona de crecimiento es un potente anabólico con efectos fisiológicos benéficos en el manejo metabólico y nutricio de los enfermos críticos; estimula el

ingreso de aminoácidos a la célula y la proliferación celular; moviliza las grasas hacia la lipólisis; promueve el crecimiento de músculo esquelético y su fuerza; regula los niveles de glucosa sérica, y mejora los balances de nitrógeno, potasio, calcio y fósforo. Aunque se describe el uso de N-butil 2-cianoacrilato para ocluir los trayectos fistulosos y así lograr el cierre definitivo de las fístulas, todavía no es tiempo de utilizarlo de modo indiscriminado; debe esperarse a conocer bien sus indicaciones, forma de uso y complicaciones.

TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

El paciente con fístula enterocutánea puede ser re intervenido por dos condiciones:

1. Fracaso en el cierre espontáneo de la fístula. Las causas más importantes son: pérdida de sustancia mayor de 50% de la circunferencia de la luz intestinal, presencia de absceso o cuerpo extraño contiguo a la fístula, oclusión intestinal distal a la fístula, bordes evertidos del orificio fistuloso, persistencia de alteración intestinal inflamatoria, enteritis pos radiación, cáncer y desnutrición grave. Si los problemas anteriores no se presentan, el tiempo prudente de cierre de la fístula con apoyo nutricional es de cuatro a seis semanas; si persiste debe pensarse en su resolución quirúrgica, procurando que las condiciones generales del paciente sean mejores gracias al apoyo nutricional. Debe mencionarse que el intento de cerrar la fístula mediante la colocación de puntos realizado a la cabecera del paciente no ha demostrado beneficios y, por el contrario, puede ampliar el orificio fistuloso. Quien re intervenga a un paciente con fístula enterocutánea debe ser un cirujano con experiencia y con los apoyos tecnológicos adecuados que le permitan obtener buenos resultados.
2. Persistencia de sepsis abdominal. Es indudable que si la sepsis abdominal persiste el paciente debe ser re intervenido, sin intentar resolver el problema de la fístula. Gracias a la imagenología la mayor parte de estos abordajes puede realizarse por punción percutánea.

2 COMPLICACIONES PRONOSTICO Y CASUÍSTICA DE FISTULAS ENTEROCUTANEAS

2.1 COMPLICACIONES

La presencia de una fístula enterocutánea es un problema agregado en un paciente ya de por sí grave. Las complicaciones derivadas de una fístula incluyen: problemas hidroelectrolíticos, nutricionales e infecciosos, lesión de la pared abdominal y erosión de grandes vasos por digestión de las enzimas intestinales, hemorragias agudas fatales, enfermedad tromboembólica por inmovilidad, endocarditis bacteriana e insuficiencia multiorgánica por sepsis. Además, la utilización de la nutrición artificial conlleva una serie de posibles complicaciones, ya sean técnicas (neumotórax, lesión vascular, trombosis), sépticas por el catéter o metabólicas (hiperglucemia, hipopotasemia, hipomagnesemia, hipofosfatemia) que incrementa la morbilidad. La re operación por fístulas enterocutáneas puede acompañarse de morbilidad y mortalidad altas. Por último se vinculan alteraciones psicológicas secundarias a la prolongada estancia hospitalaria, la imposibilidad para comer, las dificultades para controlar los gastos de la fístula, las curaciones y la repetida toma de muestras de sangre, sin contar con las alteraciones del núcleo familiar, que también se ve afectado.

2.2 MORTALIDAD

Hace años la mortalidad era de 60 a 80%; no obstante, disminuyó a 25% gracias a la terapéutica nutricional, el apoyo intensivo de la disfunción orgánica, el control de la sepsis con antibióticos específicos y la cirugía abdominal repetida. Se informan tasas de mortalidad de hasta 80% cuando las fístulas se acompañan de complicaciones, en tanto que las no complicadas tienen una mortalidad de 4%. La sepsis es la causa de casi 80% de las defunciones.

Las fístulas de origen posoperatorio tienen una mortalidad más alta, pero tienden a cerrar de manera espontánea con mayor frecuencia. Las fístulas internas tienen una mortalidad más baja que las externas. En los pacientes referidos desde otras instituciones se observa mayor mortalidad que en los intervenidos por vez primera en el mismo hospital. La mortalidad es más alta en las fístulas

de gasto alto que en las de gasto bajo. Las fístulas duodenales de pared lateral y las yeyunoileales tienen mayor mortalidad que las de otros sitios anatómicos. La concentración sérica de albúmina se considera un factor de predicción importante tanto para la mortalidad como para el cierre espontáneo: a mayor concentración de albúmina sérica, menor índice de mortalidad y más alto porcentaje de cierre espontáneo de las fístulas.

2.3 CASUÍSTICA EN CENTRO MEDICO NACIONAL

A continuación se describe la experiencia del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional del IMSS, donde se analizaron en forma retrospectiva 444 fístulas del tracto digestivo en pacientes con una edad promedio de 44 años.

Como ya se mencionó, 82% fue secundario a procedimientos quirúrgicos y sólo 18%, a procesos inflamatorios. Las fístulas de esófago, estómago, duodeno y vías biliares se presentaron en los primeros cinco días; las de yeyuno e íleon, entre seis y ocho días, y las de colon, después de 10 días. Se manejaron con nutrición parenteral total (NPT) 273 fístulas de gasto alto y con nutrición enteral, 33 de gasto alto y 110 de gasto bajo. Entre los pacientes con NPT se obtuvo el cierre espontáneo en 155 (57%) y 48 (18%) requirieron reintervención quirúrgica para corregir la fístula; en la mayoría de estos pacientes las condiciones generales y nutricionales fueron mejores gracias al apoyo nutricional indicado. La mortalidad en paciente con NPT fue de 70 pacientes (25%) y se relacionó con sepsis, desnutrición y grandes defectos de la pared abdominal. En 33 pacientes con fístulas de gasto alto en los que se utilizó nutrición enteral (NE), el cierre espontáneo se obtuvo en 49%, en 24% se cambió a NPT y en 27% se realizó una reintervención quirúrgica para lograr el cierre de la fístula. De 138 pacientes con fístulas de gasto bajo, se logró el cierre espontáneo en 110 casos (80%), 6% falleció, 5% se cambió a NPT y 9% se sometió a reintervención quirúrgica. Sin considerar el sitio anatómico, se obtuvo un cierre promedio global de 60 por ciento.

El promedio de cierre fue de 25 días, que en algunos casos se prolongó hasta las fístulas de vías biliares, páncreas, duodeno, estómago y esófago son las que cierran de manera más temprana; las de yeyuno e íleon son las de cierre más tardío.

2.4 PRONÓSTICO

La evolución de las fístulas enterocutáneas está influida por diversos factores, entre ellos:

Factores favorables:

- a. Que el órgano de origen sea estómago, duodeno terminal, íleon y colon.
- b. Que el trastorno no haya sido traumático.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- c. Que sea de muñón apendicular posapendicectomía.
 - d. Que el defecto sea menor de 1 cm².
 - e. Que el intestino tenga continuidad y exista permeabilidad del tránsito intestinal.
 - f. Que el trayecto fistuloso sea mayor de 2 cm de longitud.
 - g. Que el defecto de la enterotomía drene a la incisión.
 - h. Que no exista morbilidad relacionada.

Factores desfavorables:

- a. Que el órgano de origen sea esófago, duodeno, pared lateral, páncreas, vías biliares y yeyuno.
- b. Que la fístula abarque más de 50% de la circunferencia intestinal.
- c. Que el trastorno sea secundario a enfermedad inflamatoria intestinal, radiación o cáncer.
- d. Que falte continuidad del tracto digestivo o se encuentre un cuerpo extraño o absceso en la vecindad de la fístula.
- e. Que el trayecto fistuloso sea menor de 2 cm de longitud, se encuentre epitelizado y con los bordes de la mucosa intestinal evertidos.
- f. Que se presente obstrucción distal a la fístula.
- g. Que ocurra dehiscencia de la pared abdominal.
- h. Que exista morbilidad relacionada, como desnutrición, sepsis, intervenciones quirúrgicas múltiples previas, diabetes, arterioesclerosis, hipertensión arterial.

El cierre espontáneo ocurre más a menudo en las fístulas distales que en las proximales y en las de bajo gasto contra las de gasto alto. Los pacientes enviados de otras instituciones presentan una mortalidad mayor que los intervenidos por vez primera en el mismo hospital.

3 MATRIZ EXTRACELULAR Y CICATRIZACIÓN

3.1 DESCRIPCIÓN DE MATRIZ EXTRACELULAR

La matriz extracelular (MEC) representa una red tridimensional que engloba todos los órganos, tejidos y células del organismo. Constituye un filtro biofísico de protección, nutrición e innervación celular y el terreno para la respuesta inmune, angiogénesis, fibrosis, migración celular, y regeneración tisular. Y representa el medio de transmisión de fuerzas mecánicas a la membrana basal, que a través de las integrinas soporta el sistema de tensegridad y activa los mecanismos epigenéticos celulares. La alteración de la MEC supone la pérdida de su función de filtro eficaz, nutrición, eliminación, denervación celular, pérdida de la capacidad de regeneración y cicatrización y alteración de la transmisión mecánica o mecanotransducción. También la pérdida del sustrato para una correcta respuesta inmune ante agentes infecciosos, tumorales y tóxicos la MEC cuenta con una composición rica en colágeno y glucosaminoglucanos, como ácido hialurónico, condroitinsulfatos A y B, dermatansulfato y heparansulfato. Contiene también proteoglucanos y glucoproteínas, conocidas por su importante papel en la reparación y remodelación tisular.

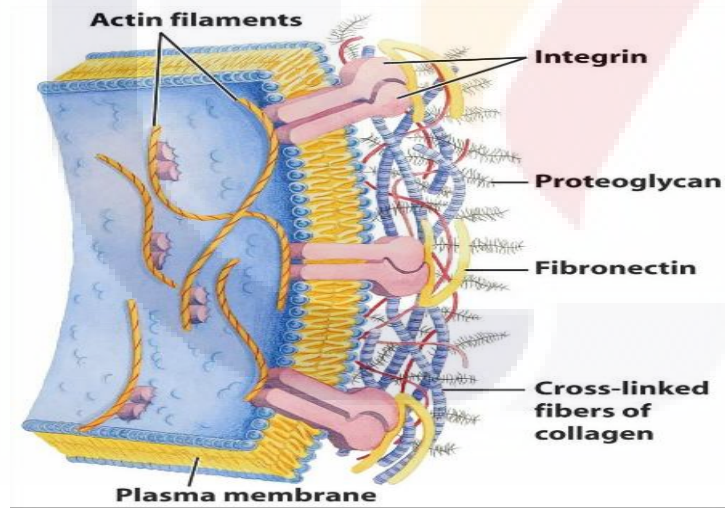
Los glucosaminoglucanos son componentes esenciales de la matriz extracelular que tienen un importante papel funcional y estructural. Modulan la cicatrización interviniendo en la organización y el depósito de las fibras de colágeno, estimulando la angiogénesis e iniciando la proliferación y diferenciación celular. Intervienen también en la remodelación durante las fases más adelantadas de la cicatrización, mediante el control del tamaño, la orientación y la disposición de las fibras de colágeno.

3.2 ASPECTOS BIÓLOGICOS Y FUNCIONALES DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

La actividad biológica del ser humano resulta de interacciones entre el organismo, su medio interno y su ambiente exterior. Para ello hay que pensar en la célula no como una entidad aislada, sino en permanente interacción con el medio que la rodea. La construcción de tejidos y órganos o sociedades celulares, se basa en el reconocimiento del entorno, la distribución de componentes citoplásmicos, los cambios de forma, la movilización y el desplazamiento orientado, el establecimiento de contactos y asociaciones con otras células y/o con materiales extracelulares.

La membrana plasmática según el modelo de Singer-Nicolson o modelo del «mosaico fluido», con la doble capa de lípidos y las proteínas integrales que atraviesan total o parcialmente la membrana, se concibe como un mosaico de zonas más viscosas de la membrana que se mueven entre áreas más fluidas a la temperatura corporal de cada especie. Los diferentes componentes de la membrana celular tienen capacidad para movilizarse y realizar diferentes tipos de movimientos moleculares, como girar, bascular entre las superficies externa e interna y desplazarse tangencialmente a lo largo y ancho de la membrana. Esto explica muchas de las funciones celulares como el flujo de membrana, el funcionamiento de los receptores, el reconocimiento celular, la actividad enzimática superficial, la adhesión célula-célula y la adhesión célula-sustrato, la motilidad celular en un líquido o sobre sustratos, los fenómenos de endocitosis y exocitosis, los cambios de forma celular, la interacción y reclutamiento de ligandos, fenómenos inmunes y de histocompatibilidad. Paralelamente, determina la heterogeneidad fisicoquímica entre membranas de diferentes células y entre diferentes dominios de una misma membrana, así como la asimetría entre los componentes superficiales y citosólicos de una membrana.

El citoesqueleto es una estructura dinámica que ocupa el citoplasma. Los principales tipos de polímeros que forman el citoesqueleto son microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios. La más mínima modificación extracelular del potencial eléctrico podría ser un desencadenante de cambios del citoesqueleto. La matriz nuclear está conectada con la matriz intracelular y por tanto



puede reaccionar gracias a estas interconexiones a impulsos externos.

La trama citoplásmica establece nexos de unión con la matriz nuclear por un lado y con la matriz extracelular por el otro. A través del citoesqueleto se transmiten las fuerzas de tensegridad y mecanotransducción que dan forma y movimiento a la célula, traducen los estímulos bioquímicos y ponen en

FIGURA 1.- Estructura de matriz extracelular

marcha el programa epigenético celular.

Se estima que la MEC supone un 20% de nuestra masa corporal total, el mayor órgano del cuerpo. La célula viva siempre está rodeada por MEC, escasa en el tejido epitelial y muy abundante en el tejido conectivo. Además, en el sistema de sustancia básica hay células de soporte y otras células que forman parte de la misma. Las principales células de soporte son los fibroblastos/fibroцитos,

Condroblastos/condrocitos, osteoblastos/osteocitos, miofibroblastos y adipocitos. Las células de soporte son esenciales para la síntesis de la estructura de las fibras extracelulares y de los proteoglicanos (PG) y glucoproteínas (GP). La calidad del filtro biofísico de los PG y de los glucosaminoglucanos (GAG) de la MEC depende de estas células.

Las células de soporte sanas (fundamentalmente los fibroblastos) hacen posible una restauración rápida de la MEC después de una lesión. Entre las células locales de la MEC destacan los macrófagos, los neutrófilos y otros fagocitos que eliminarán la mayor parte de las sustancias indeseadas así como los mastocitos. Son todos ellos responsables de los mecanismos de defensa inespecíficos. También hay células citotóxicas (linfocitos Tc) y linfocitos citolíticos naturales (linfocitos NK) para eliminar las células aberrantes o las células intoxicadas o lesionadas. La MEC es por tanto una zona de transición cuya principal función es la transmisión de materia, energía e información mediante sustancias mensajeras, potencial eléctrico e impulsos eléctricos, que sirve de base a la mayor parte de las interacciones entre los diferentes sistemas de regulación del organismo.

Existen interacciones coordinadas competitivas entre factores solubles, otras células y la MEC que definen los nichos o microambientes bioquímicos y mecánicos locales. Los nichos no son estáticos en función ni en número, y pueden ser creados o cambiados en condiciones específicas, con una regulación compleja y dinámica que influye en el tránsito, la supervivencia, autorrenovación, proliferación y diferenciación de las células madre.

3.3 DINÁMICA LIFOCITARIA SOBRE LA MATRIZ EXTRACELULAR

Los principales usuarios de las autopistas de la comunicación de la MEC son las células linfoides. La MEC puede mostrar diversas formas estructurales así como diferente composición bioquímica; una de sus formas corresponde a las membranas basales, que constituyen auténticas barreras que los linfocitos en su movimiento migratorio han de atravesar (fig. 3). La matriz intersticial constituye una especie de guías o caminos por los que los linfocitos discurren con toda facilidad y a gran velocidad. La migración de los timocitos, crucial para su correcta diferenciación, también depende en gran medida de la MEC. Los linfocitos se relacionan con la MEC a través de receptores específicos, citocinas y factores quimiotácticos, y los diferentes tipos de leucocitos emplean diferentes mecanismos para migrar a través de la MEC, lo cual está determinado tanto por su composición como por su estructura.

De la rigidez o flexibilidad así como del movimiento coordinado de la membrana basal, depende la morfología aplanada o redondeada de los elementos celulares y la estructura tridimensional de los

patrones tisulares que constituyen glándulas, alvéolos, conductos o papilas. Los linfocitos han de atravesar la membrana basal en su viaje hacia los epitelios.

En su continuo discurrir a través de los vasos, los linfocitos permanecen en la luz de los mismos, delimitados por la capa de células endoteliales, su propia membrana basal y la MEC. Cuando han de acudir a un territorio a ejercer sus funciones, por ejemplo atraídos por un foco de inflamación, entonces la extravasación leucocitaria incluye una cascada de eventos que van desde la penetración de la capa de células endoteliales hasta la transmigración a través de la MEC. Dicha cascada comienza con la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales, proceso dirigido por las selectinas. A continuación se produce una activación dependiente de quimioquinas, la detención de la circulación leucocitaria que depende de las integrinas y la subsiguiente migración celular que depende del antígeno asociado a la función linfocitaria (LFA-1). La transmigración celular de los leucocitos a través de las uniones de las células endoteliales está regulada por moléculas de adhesión intercelular como CD99 e intra- o transcelular como ICAM-1. Tras atravesar en dos o tres minutos la monocapa de células endoteliales, los leucocitos topan contra la membrana basal endotelial, dependiente de las propias células endoteliales así como de las células perivasculares y mucho más lenta de atravesar. Finalmente migran a través de la matriz intersticial estromal, otra vez a gran velocidad, hasta alcanzar el foco inflamatorio que les llama. Naturalmente los mecanismos utilizados por los leucocitos para atravesar la membrana basal o avanzar a través de la matriz intersticial son diferentes, como también son diferentes de los mecanismos empleados por fibroblastos activados o células tumorales, que migran a través de un proceso de proteólisis pericelular mucho más lento.

En su migración a través de la MEC intersticial, los leucocitos exhiben movimientos ameboides que permiten que su cuerpo celular se alinee con las fibras de colágeno que utilizan como andamio o superficie de avance a través de un flujo mediado por los filamentos de actina que resultan en un cambio de la forma celular. En zonas estrechas el tamaño del núcleo puede generar resistencia interna, mientras que las estrecheces causadas por la resistencia externa de la densidad fibrilar intersticial es superada por la contracción de sus filamentos de miosina. En matrices bidimensionales las integrinas desempeñan un papel fundamental en el movimiento migratorio de los leucocitos. Es decir, que dependiendo de la organización del medio extracelular, los leucocitos utilizan diferentes métodos de locomoción.

3.4 BIOTENSEGRIDAD O EL PODER DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

Los profesionales que trabajan en terapias físicas conocen perfectamente como a través del contacto, del masaje, del movimiento o del estiramiento se producen importantes cambios en la

salud. ¿Qué ocurre a nivel celular o molecular para que se produzcan estos cambios? La clave parece estar en la MEC y en las especializaciones que las células tienen para convertir los cambios mecánicos en cambios químicos o genéticos, lo que se conoce como mecanotransducción, proceso bien estudiado en la célula muscular cardíaca, el fibroblasto, el osteocito, el endotelio o las neuronas. El sistema de tensión integrada del que la célula dispone para mantener su morfología y su función recibe el nombre de tensegridad. Este mecanismo se basa en movimientos de compresión o de tensión de las células, que reciben el impacto mecánico a través de los elementos específicos diseñados para ello.

Las células han desarrollado un mecanismo especial que les permite anclarse a las fibras de colágena, glicoproteínas y proteoglicanos que constituyen dicha matriz. Esas especializaciones son las integrinas, auténticos puentes moleculares de unión entre la MEC y el citoesqueleto. La red molecular del citoesqueleto está constituida por microfilamentos (de actina), microtúbulos (de tubulina) y filamentos intermedios, específicos de cada tipo celular. En el interior de la célula, los microtúbulos constituyen las estructuras de compresión, mientras que los filamentos de actina, estrechamente asociados a los de miosina, constituyen las estructuras de tensión. De manera que la tensión mecánica generada por el movimiento músculo-esquelético se transmite por presión a los órganos internos, que recogen el estímulo en la MEC, que confiere a través de las integrinas el movimiento al interior de la célula, que distribuye la fuerza tensional a través de su sistema de tensegridad, el citoesqueleto. Este traduce en señales químicas y en estímulos mecánicos dichas fuerzas, que son conducidas hasta el núcleo, que igualmente dispone de su propio sistema de tensegridad, poniendo en marcha ahora la respuesta al estímulo recibido en forma de activación de genes y secreción de proteínas. El circuito descrito pone en marcha, a través de estímulos mecánicos o mecanotransducción, la proliferación, el metabolismo celular, la diferenciación o la apoptosis.

La evolución ha diseñado un sistema en el que simplemente modificando la forma de la célula es posible activar diferentes programas genéticos celulares, como ha sido probado en células musculares, epiteliales, nerviosas, inmunes, óseas y fibroblastos. Cuando la morfología de una célula se aplanan, la tensión generada informa que hacen falta más células y se pone en marcha el proceso de división. Si la forma se redondea, entonces ocurre lo contrario y se dispara el programa de apoptosis o anoikis. En caso de equilibrio, ni aplanamiento ni redondez de la forma, la célula encuentra las condiciones óptimas de diferenciación y funcionamiento para el microambiente donde habita. Todas las células del organismo están sujetas a este mecanismo de tensegridad basado en la estructura interna de la matriz nuclear y el citoesqueleto. Gracias a los filamentos intermedios alcanzan la matriz nuclear y gracias a los miofilamentos de actomiosina se enlazan con las fibras de

la MEC, a las que dan la mano a través de las integrinas. Es así como cada célula siente su entorno y responde a él según sus propias necesidades.

La rigidez variable in vitro de la MEC es capaz de producir una diferenciación fenotípica absolutamente dispar en las mismas células madre mesenquimales. Una MEC blandita, parecida al cerebro, con una

presión de 1kPa (kilopascal) producirá diferenciación neurogénica; una MEC más firme de 10 kPa, parecida al músculo, inducirá diferenciación muscular, mientras que una matriz rígida, como el cartílago o el hueso, de 100 kPa, inducirá diferenciación osteogénica. Todo ello a partir de las mismas células madre mesenquimales. Las propiedades de conducción eléctrica de las células miocárdicas o las redes neurales también son moduladas a través de las interacciones entre la MEC y los mecanismos de tensegridad celular. Dicha tensión isométrica es clave para la vida y explica desde la forma de las células, los órganos y los tejidos hasta porqué el cirujano tiene que suturar una incisión sobre la piel o porqué un órgano hueco se colapsa al abrirlo. Y ello ocurre a nivel macroscópico, en el organismo entero o en una estructura tisular, a nivel de células y organelas, y también a nivel molecular, incluyendo la propia estructura del ADN. Es posible intuir así que la vida no está basada en una serie de procesos químicos desestructurados, y que la biología, la fisiología y la patología tienen que considerar que la fuerza mecánica aplicada sobre un órgano vivo atraviesa diferentes escalas de tamaño hasta convertirse en un estímulo bioquímico celular a través de un proceso específico de transducción molecular. En todo el camino, el elemento central de nexo y comunicación será la MEC.

Visto así, desde el punto de vista evolutivo, si bien es cierto que los cambios en el ADN generan la biodiversidad, los genes aparecen como un producto de la evolución y no como la fuerza original que la conduce. Cobran sentido así no solo la aproximación al código genético en la funcionalidad celular, sino también el código epigenético y un tercer código de tensegridad.

3.5 MECANOTRANSDUCCIÓN

El proceso de mecanotransducción convierte el estímulo mecánico en señal química y permite la adaptación celular a su microambiente. Sus alteraciones se han mostrado clave en un amplio espectro de enfermedades, que van desde la sordera, la arteriosclerosis o las cardiomiopatías, hasta la osteoporosis, el glaucoma o el riñón poliquístico, pasando por el cáncer y enfermedades del sistema inmune. Como su mecanismo incluye pasos que van desde la MEC hasta la membrana citoplásmica, el citoesqueleto y la propia membrana nuclear, la cantidad de proteínas y moléculas que pueden verse implicadas es enorme. Por eso se han clasificado en tres grandes grupos que incluyen aquellas alteraciones que corresponden al microambiente extracelular, las que afectan la

estructura y organización celular y finalmente las de señalización celular. Todas ellas acaban afectando a nivel genético y epigenético la cromatina nuclear de manera diferente y específica en cada enfermedad.

La velocidad a la que se transmiten los estímulos mecánicos es mucho más alta que la de las señales químicas. Constituyen un mecanismo físico de integración de la parte con el todo, ya que cada vez que movemos un músculo o recibimos un masaje, la piel se arruga, un hueso recibe la compresión, y un tejido vivo recibe el estímulo y responde con su función. Si el estímulo es excesivo o se mantiene en el tiempo, el efecto mecanoquímico remodela el sistema de tensegridad que informará del cambio mecánico y lo transformará en nuevas condiciones moleculares. La importancia de los genes se supedita así al movimiento, el masaje o las terapias físicas, que afectan realmente los programas de crecimiento celular, diferenciación, respuesta inmune y tantos otros, críticos para la salud. La tensegridad explica por qué los genes, las moléculas y sus interacciones no pueden considerarse de forma independiente e individual. Todo el comportamiento y función biológicos cobran sentido a partir de ensamblajes supramoleculares, a partir de relaciones complejas de orden superior y patrones fractales presentes por doquier en la biología. Estos procesos se explican de forma matemática por las leyes del caos, a través de la formación de atractores, bifurcaciones y nuevos niveles emergentes que suponen siempre la implicación de todo el organismo de forma global, desde lo macro hasta lo micro, en una jerarquía de superorganización biológica.

Las distintas moléculas que forman la matriz extracelular están unidas entre sí para formar un entramado cohesionado y de igual modo, las células están adheridas a las moléculas de la matriz extracelular. La mayoría de estas uniones son entre proteínas, pero también entre proteínas y azúcares (glucoproteínas). Dentro de este grupo de proteínas destacan las llamadas CAM (Cell Adhesion Molecules) o proteínas de adhesión celular. Con este término se designa a un grupo diverso de proteínas de membrana involucradas en procesos biológicos, que implican el contacto célula-célula o célula-matriz, como la proliferación, la migración, la diferenciación y la muerte celular. Las CAMs participan en estos procesos reconociendo receptores específicos que suelen ser otras moléculas CAMs situadas en otras células o en la matriz celular, originando una serie de señales que se transducen al interior celular.

Las conexiones entre moléculas de la matriz extracelular y los elementos celulares se producen a través de complejas interacciones con las CAMs, ya sea entre las propias proteínas de la MEC (como las fibronectinas), proteínas de unión célula-MEC (las integrinas) o bien proteínas de unión célula-célula. Las CAMs se clasifican en familias entre las que se encuentran integrinas, selectinas,

cadherinas, inmunoglobulinas y proteínas de la matriz extracelular, pueden unirse a otras moléculas del mismo tipo (interacción homofílica) o bien de tipo diferente (interacción heterofílica).

Proteínas presentes en la matriz extracelular son las Fibronectinas, glucoproteínas formadas por dos cadenas de polipéptidos con uniones disulfuro. Poseen dominios en su estructura que permiten unirse al colágeno, a ciertos proteoglicanos, a algunos glucosaminoglicanos, a la fibrina, a la heparina y a proteínas de la superficie celular como las integrinas. Establecen uniones entre moléculas de la matriz extracelular y de las células con la matriz extracelular. Las moléculas de fibronectina pueden aparecer formando fibras insolubles en los tejidos conectivos o solubles en el plasma de los fluidos corporales, como la sangre. Tienen un papel muy importante durante el desarrollo embrionario creando sendas por las que pueden migrar las células de un lugar a otro del embrión. Las tenascinas son una familia de proteínas de gran tamaño que aparecen en tejidos embrionarios y en tumores. Son capaces de unirse a las integrinas, a los proteoglicanos y a los receptores de inmunoglobulinas. Otras glucoproteínas de adhesión de la matriz extracelular son el fibrinógeno, que une receptores de superficie de las plaquetas y permite la coagulación sanguínea, la laminina en la formación de las láminas basales y la osteopondina, presente en el hueso o el riñón. Hay cuatro tipos de moléculas de unión célula-célula: cadherinas, inmunoglobulinas, selectinas y algunos tipos de integrinas. Las cadherinas se encuentran en la superficie de la mayoría de las células animales y forman uniones homotípicas, es decir, reconocen a otras cadherinas en la célula adyacente (fig. 4). Son una gran superfamilia de proteínas cuyos miembros suelen aparecer característicamente en ciertos tejidos, siendo especialmente importantes durante el desarrollo embrionario o formando parte estructural de los desmosomas (zónula adherens). Las moléculas de adhesión del tipo inmunoglobulina, forman uniones homofílicas con inmunoglobulinas presentes en la célula adyacente. Las selectinas son también proteínas de adhesión entre células, pero forman uniones heterofílicas, es decir, se unen a glúcidos presentes en la célula vecina y son importantes en la unión de los leucocitos a las paredes del endotelio cuando abandonan el torrente sanguíneo para adentrarse en los tejidos. Finalmente las integrinas, además de mediar la adhesión célula-matriz extracelular, también pueden mediar adhesiones célula-célula. En concreto, algunas integrinas pueden formar uniones con algunas moléculas transmembrana del tipo de las inmunoglobulinas.

Cadherina E que interviene en procesos de diferenciación y morfogénesis tisular, juega a su vez un importante papel en la modulación de la capacidad invasiva de las células tumorales en cáncer de mama y otros tumores epiteliales.

3.6 INTEGRINAS

Las moléculas de la MEC transmiten sus señales hasta las células de su entorno a través de las integrinas. El esquema de componentes y moléculas implicadas en el proceso de mecanotransducción incluye canales iónicos mecanosensibles, cadherinas, caveolas, integrinas, adhesiones focales, cilios, filamentos del citoesqueleto, estructuras nucleares y proteínas de la MEC. Las integrinas constituyen mecanoreceptores especializados, capaces de traducir una señal mecánica y transmitirla desde la superficie celular a través de una vía molecular específica para convertirla en cambios bioquímicos intracelulares, el estímulo de multitud de otros receptores o la inducción de la expresión génica. A ese nivel existen grandes complejos macromoleculares que constituyen puntos de adhesión entre la matriz intersticial y la célula que se conocen como adhesiones focales (AF), auténticas organelas mecanosensitivas. Las células solo crecen y se diferencian en un contexto tisular apropiado, y esta información se obtiene a través de la interacción específica entre la célula y la MEC. Las integrinas promueven la supervivencia celular a través de las AF, pero también el proceso fisiológico de anoikis—la apoptosis en respuesta a una inadecuada relación célula/MEC y el correcto recambio de los tejidos epiteliales.

Las integrinas son las moléculas más importantes que anclan la célula a la matriz extracelular, aunque algunos proteoglicanos también pueden realizar esta función. Constituyen una gran familia transmembrana de proteínas cuyos miembros son expresados según los tipos y necesidades fisiológicas de tejidos y células, con un dominio intracelular que contacta con el citoesqueleto y otro extracelular globular que es capaz de unir colágeno, integrinas y lamininas, constituyendo un enlace capaz de modificar el comportamiento celular. La célula puede modificar su capacidad de adhesión, y por tanto su movilidad, cambiando el juego de proteínas receptoras en su superficie.

Existen tres importantes subfamilias de integrinas. Las proteínas de la subfamilia beta-1 se caracterizan por presentar la cadena beta-1 de tipo CD29. Su cadena alfa puede ser de varios tipos. En este grupo se incluyen las proteínas VLA (Very Late Activation) con 6 tipos diferentes de cadena alfa (CD49a-f) que generan las proteínas VLA1, VLA2, VLA3, VLA4, VLA5 y VLA6. Las proteínas VLA se expresan en la mayor parte de las células del organismo, excepto en los granulocitos. En basófilos y neutrófilos no existen este tipo de integrinas y solo en eosinófilos se expresa la integrina VLA4 (alfa-4/beta-1). Los linfocitos expresan diversas integrinas beta-1 especialmente si están activados ya que se ha comprobado un incremento significativo días después de la activación. Las integrinas de la subfamilia beta-2, conocida también como CD18, se denominan integrinas linfoides y se asocian a tres isoformas de cadena alfa que recibe el nombre de CD11 formando las integrinas LFA-1 (Lymphocyte Function-associated Antigen-1) o CD11a/CD18, MAC-1 (CR3 o CD11b/CD18) y

p150,95 o CD11c/CD18 . Estas integrinas se localizan en los leucocitos y participan en la adhesión a las células endoteliales activadas. Son necesarias para la extravasación de los linfocitos a través del endotelio hacia el foco inflamatorio y en la quimiotaxis de los leucocitos hacia los sitios de inflamación. Los miembros de la subfamilia beta-7 se expresan principalmente en linfocitos localizados en placas de Peyer, lámina propia y epitelio intestinal.

Los factores que producen la activación celular de linfocitos, como antígenos o citocinas, inducen indirectamente el cambio en la conformación de las integrinas aumentando su afinidad por el ligando. Los cambios en la distribución de integrinas en la membrana celular parecen estar causados por modificaciones del citoesqueleto que ocurren como consecuencia de las señales intracelulares generadas durante la activación celular. Las integrinas median una gran variedad de interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular. Se unen a proteínas de la matriz extracelular como la fibronectina y laminina, a otras moléculas de adhesión como las ICAM-1 de la superfamilia de las inmunoglobulinas o a moléculas solubles como fibrinógeno y Factor de von Willebrand relacionadas con la coagulación. Las plaquetas activadas usan la proteína VLA-2 para su adhesión al colágeno, y la VLA-6 para interaccionar con la laminina. Las células endoteliales también se pueden unir al colágeno y a la laminina mediante VLA-2. La VLA-4, ligando para las moléculas de adhesión vascular de tipo I (VCAM-I: Vascular Cell Adhesion Molecules-I), se expresa de forma diferencial de modo que está presente en monocitos, linfocitos T y B y eosinófilos, pero no en neutrófilos y basófilos. Este patrón de expresión puede que sea un mecanismo de reclutamiento selectivo de leucocitos ante diferentes condiciones.

3.7 FLUJO ENERGÉTICO DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

La electrobiología es el estudio de los sistemas eléctricos de los seres vivos. Los tejidos y los órganos generan campos eléctricos y magnéticos que poseen una importante función biológica, hasta el punto de que todo proceso fisiológico del organismo posee una contrapartida electromagnética característica. Esta función es alterada con los procesos patológicos de la inflamación, la degeneración o la aparición de un nuevo tejido en el seno de un órgano. La actividad electromagnética de un órgano no queda restringida dentro de la cápsula del órgano, sino que se extiende hasta afectar el campo de los órganos vecinos, interrelacionando y comunicando estructuras adyacentes y a veces lejanas, como hace el corazón enviando su onda electromagnética a través del torrente circulatorio a todo el organismo.

Pero, ¿cuáles son los circuitos de estas corrientes eléctricas sobre el tejido?, ¿dónde están cuando miramos por el microscopio? Sabemos que la electricidad biológica es un fenómeno iónico ligado a

la polaridad de la membrana celular. Esto ocurre en la transmisión nerviosa, en la contractilidad muscular y en cualquier célula viva del organismo, y estos potenciales son fácilmente medibles a través del electrocardiograma o del electroencefalograma. Por otra parte, además de los eléctricos, existen flujos mucho menores que los iónicos, producidos por electrones y protones, flujos electrónicos y protónicos. Tenemos así un sistema de interacción energético que junto al químico constituye el lenguaje del cuerpo y del que depende su integridad.

Un vistazo al sustrato material del cuerpo desde el punto de vista energético supone eliminar la vieja concepción de la célula como un globo o una bolsa llena de organelas y separada del exterior a través de la membrana celular. Lejos de eso la célula presenta una estructura interna constituida por microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios, que constituyen su citoesqueleto, un auténtico microcableado que sirve para conectar los genes y la matriz nuclear a la MEC y sus fibras de colágena a través de las integrinas y las adhesiones focales, tal y como ya hemos visto. El alcance de esta fina instalación eléctrica incorpora a la fisiología la posibilidad de transmitir la caricia de un dedo en la piel hasta las mismas entrañas nucleares, la cromatina y los genes. Y la evidencia de su estructura aporta a la histología la chispa de la función, que permite ver ahora en el tejido los circuitos energéticos que soportan la vida y sus relaciones, integradas a través de los mecanismos de tenseguridad y mecanotransducción.

La matriz nuclear, la matriz citoplásmica y la matriz extracelular están interconectadas formando una red que pone en comunicación todas las moléculas del cuerpo. Las vías de energía y los circuitos de información encuentran sus grandes autopistas precisamente en la MEC, cuya composición y estructura no solamente sirven de elemento de soporte, sino que constituyen precisos circuitos de transmisión mecánica, vibratoria, energética, electrónica y química, conformando la pieza clave que mantiene conectados a los órganos y que garantiza su correcto funcionamiento.

Los campos eléctricos producidos a través del movimiento suministran la información que dirige la actividad celular y el patrón de remodelación tisular. Osteoblastos, mioblastos, células perivasculares y fibroblastos se encargan de reabsorber y producir el colágeno que sirve para reformar, adaptar y regular cada órgano a su función actual. El sistema circulatorio, el sistema nervioso, el musculoesquelético o el tubo digestivo, todos ellos están conectados a través de una compleja red de tejido conectivo con funciones nutritivas, de desecho, sensitivas y de comunicación, la MEC. Dicho tejido ofrece una continuidad a todos los órganos de la economía, determina la forma general de todo el organismo, recibe el impacto del movimiento y transmite sus correspondientes señales bioeléctricas.

La MEC ofrece su función de autopista de comunicación gracias a su hidrofilia, que depende de las intensas cargas negativas de sus componentes. Dichas cargas aportan movimiento, contracción y giro a la matriz, que le dan funcionalidad y vida. La alteración de las cargas eléctricas de la matriz conllevará un potente impacto sobre su función, modificando sus propiedades hidrófilas y por tanto la difusión de sustancias y la transmisión de estímulos a su través. La aparición de enfermedades de cualquier tipo, infecciones de tipo viral, bacteriano o micótico, tumores, etc., producen cambios en el contenido de iones, agua y pH de los fluidos extracelulares, afectando consecuentemente las membranas celulares y sus micropotenciales eléctricos. La conductancia tisular alterada del tejido inflamado o tumoral brinda la oportunidad de usar esta información con fines diagnósticos, midiéndola desde la superficie cutánea, como en el cáncer de mama o en el de colon.

Los fibroblastos están inmersos en una red constituida por proteoglicanos unidos a una especie de raspa de ácido hialurónico a través de su núcleo proteico. El matrisoma, la unidad de proteoglicanos que se repite, aloja entre sus cadenas de condroitín sulfato numerosos electrones que conforman la carga eléctrica negativa del campo de la MEC. Los componentes de la MEC son semiconductores con capacidad de transferir los electrones que alojan por gradiente hasta el lugar donde se necesiten. Y no solo la electricidad de los electrones, sino la proticidad de los protones, campo de estudio de la química cuántica, y otra de las funciones de la MEC. La morfología de esta dinámica sutil e invisible queda reflejada al mirar por el microscopio en el estallido oxidativo que supone la acción de polinucleares neutrófilos, histiocitos y otras células del sistema inmune en el foco inflamatorio. Allí se produce la liberación de su carga de oxígeno reactivo y de nitrógeno, carga mortífera para microorganismos patógenos y fuerza de descomposición de células y tejidos lesionados.

La MEC constituye un reservorio de cargas negativas con capacidad de donar o absorber electrones según las necesidades, de una manera tan rápida que las reacciones bioquímicas no pueden alcanzar, empleados en la neutralización de radicales libres que liberan los procesos oxidativos, como en el caso de la inflamación. La unidad fundamental de la MEC, el matrisoma, acoge la función de mantener la homeostasis osmótica, iónica, electromagnética, electrónica y protónica, tanto a nivel local como sistémico.

4 CICATRIZACIÓN

Los primeros relatos de la cicatrización de heridas datan de unos 2000 años a. C., cuando los sumerios utilizaban dos modalidades de tratamiento:

Un método espiritual que consistía en encantamientos y otro físico en el que se aplicaban materiales similares a cataplasmas a la herida. Los egipcios fueron los primeros que diferenciaron entre heridas infectadas y enfermas en comparación con heridas no infectadas. El Papiro quirúrgico de Edwin Smith, de 1650 a. C., una copia de un documento mucho más antiguo, describe cuando menos 48 tipos diferentes de heridas. Un documento posterior (Papiro de Ebers, 1550 a. C.) relata el uso de mezclas que contienen miel (propiedades antibacterianas), hila (propiedades absorbentes) y grasa (barrera) para el tratamiento de heridas. Estas mismas propiedades aun se consideran esenciales en el tratamiento diario contemporáneo de heridas.

Los griegos, que contaban con el conocimiento transmitido por los egipcios, fueron más allá y clasificaron las heridas como de naturaleza aguda o crónica. Galeno de Pergamo (120 a 201 d. C.), que ejercía como médico de los gladiadores romanos, tenía un numero enorme de heridas por tratar después de los combates de gladiadores. Insistió en la importancia de conservar un ambiente húmedo a fin de asegurar una cicatrización adecuada. Se requirieron casi 19 siglos para que este importante concepto se demostrara científicamente, cuando se comprobó que el índice de epitelización aumenta 50% en heridas bajo un ambiente húmedo comparadas con heridas en un ambiente seco.

El siguiente adelanto importante en los antecedentes de la cicatrización de heridas fue el descubrimiento de los antisépticos y su importancia para reducir las infecciones de las mismas. Ignaz Philipp Semmelweis, un obstetra húngaro (1818-1865), observo que la incidencia de fiebre puerperal era mucho más baja si los estudiantes de medicina se lavaban las manos con jabón e hipoclorito después de la clase de disección de cadáveres y antes de atender partos. Louis Pasteur (1822-1895) tuvo una gran

Influencia en la aclaración de la teoría de la generación espontánea de gérmenes al demostrar que los gérmenes siempre se introducían del ambiente a la herida. Es probable que Joseph Lister hiciera una de las contribuciones más importantes a la cicatrización de heridas. En una visita a Glasgow, Escocia, Lister observo que algunas áreas del sistema de drenaje de la ciudad eran menos sucias que el resto. Descubrió que el agua de los tubos que descargaban desechos que contenían ácido carbólico (fenol) era clara. En 1865 Lister comenzó a remojar sus instrumentos en fenol y a rociar el quirófano, lo que redujo las tasas de mortalidad de 50 a 15%. Esta práctica origino la suspensión de Lister, aunque la confirmación subsecuente de sus resultados allano el camino para su retorno triunfante a Edimburgo. Tras asistir a una conferencia impresionante dictada por Lister en 1876, Robert Wood Johnson dejo la reunión e inicio 10 años de investigación que resultarían en la producción de un apósito antiséptico en forma de gasa de algodón impregnada con yodoformo. A

partir de entonces se usaron otros materiales diversos para impregnar la gasa de algodón a fin de lograr la antisepsia.

Las décadas de 1960 y 1970 condujeron a la creación de apósitos poliméricos. Estos últimos pueden hacerse a la medida de acuerdo con parámetros específicos, como permeabilidad para gases (oclusivo comparado con semioclusivo), grados variables de absorbencia y diferentes formas físicas. Gracias a la posibilidad de confeccionarlos a la medida, la gama disponible de materiales que contribuye al cuidado de la herida creció en forma exponencial para incluir una variedad creciente. En la actualidad la práctica de curación de heridas incluye la manipulación, el uso, o ambos, de citocinas inflamatorias, factores de crecimiento y tejidos de bioingeniería, entre otros. La combinación de todas estas modalidades permite la cicatrización óptima de la herida.

4.1 FASES DE LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS

Como lo señaló John Hunter (1728-1793), un observador perspicaz de fenómenos biológicos, la lesión sola tiene en todos los casos una tendencia a producir la disposición y los medios para su curación. La cicatrización normal de una herida sigue un patrón predecible que puede dividirse en fases superpuestas definidas por las poblaciones celulares y las actividades bioquímicas: a) hemostasia e inflamación, b) proliferación y c) maduración y remodelación. Esta secuencia es fluida y superpuesta, y en la mayor parte de las circunstancias abarca el tiempo desde la lesión hasta la resolución de heridas agudas. Todas las heridas necesitan progresar a través de esta serie de fenómenos celulares y bioquímicos que caracterizan las fases de la cicatrización a fin de restablecer de modo satisfactorio la integridad de los tejidos.

1.-Hemostasia e inflamación La hemostasia precede e inicia la inflamación con la liberación subsiguiente de factores quimiotácticos del sitio de la herida. Por definición, una herida altera la integridad tisular y tiene como resultado el corte de vasos sanguíneos y la exposición directa de la matriz extracelular a las plaquetas. La exposición del colágeno subendotelial a estas últimas ocasiona agregación y desgranulación plaquetarias, y activación de la cascada de coagulación. Los gránulos alfa de las plaquetas liberan varias sustancias activas en la herida, como factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, platelet-derived growth factor), factor transformador de Crecimiento beta (TGF β , transforming growth factor beta), factor activador de plaquetas, fibronectina y serotonina. Además de lograr la hemostasia, el coágulo de fibrina sirve como una

estructura para la migración de células inflamatorias a la herida, como leucocitos polimorfonucleares (PMN, neutrofilos) y monocitos.

La infiltración celular después de una lesión sigue una secuencia predeterminada característica. Los PMN son las primeras células infiltrantes que penetran en el sitio de la herida y alcanzan su máximo a las 24 a 48 h. El incremento de la permeabilidad vascular, la liberación local de prostaglandinas y la presencia de sustancias quimiotácticas, como factores de complemento, interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), TGF β , factor plaquetario 4, o productos bacterianos estimulan la migración de neutrófilos.

La principal función propuesta para los neutrófilos es la fagocitosis de bacterias y desechos de tejidos. Los PMN también son una fuente importante de citosinas en etapas tempranas de la inflamación, en especial TNF- α que puede tener una influencia destacada en la angiogénesis y la Síntesis de colágeno subsecuentes. Los PMN también liberan Proteasas como colágenas, que participan en la degradación de la matriz y la sustancia fundamental en la fase inicial de la cicatrización de la herida.

Además de su función para limitar infecciones, estas células no parecen participar en el depósito de colágeno o la adquisición de la fuerza mecánica de la herida. Por el contrario, los factores neutrófilos suelen implicarse en el retraso del cierre epitelial de heridas. La segunda población de células inflamatorias que invade la herida la constituyen macrófagos, se ha reconocido que son esenciales para el éxito en la cicatrización. Los macrófagos, que se derivan de monocitos circulantes, alcanzan cifras importantes en la herida cerca de 48 a 96 h después de la lesión y permanecen en la misma hasta que la cicatrización de la herida termina.

Los macrófagos, como los neutrófilos, participan en el desbridamiento de la herida por medio de fagocitosis y contribuyen a estasis microbiana mediante la síntesis del radical oxígeno y óxido nítrico. La principal función de los macrófagos es la activación e incorporación de otras células por la vía de mediadores, como citocinas y factores de crecimiento, y también en forma directa por interacción entre célula y célula y moléculas de adherencia intercelular. Mediante la liberación de mediadores como TGF β , factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, vascular endotelial growth factor), factor de crecimiento similar a insulina, factor de crecimiento epitelial, y lactato, los macrófagos regulan la proliferación celular, la síntesis de la matriz y la angiogénesis. Asimismo, los macrófagos desempeñan una función importante en la regulación de la angiogénesis y el depósito y la remodelación de la matriz. Los linfocitos T constituyen otra población de células inflamatorias/inmunitarias que invaden de manera rutinaria la herida. Esta variedad de leucocitos, menos numerosos que los macrófagos, alcanzan sus cifras máximas alrededor de una semana después de

la lesión y en realidad son un puente en la transición de la fase inflamatoria a la fase proliferativa de la cicatrización. Aunque se sabe que los linfocitos son esenciales para la cicatrización de la herida, su función en la cicatrización de la herida aun no se define por completo. Un gran cúmulo de datos apoya la hipótesis que sostiene que los linfocitos T tienen una participación activa en la modulación del ambiente de la herida. El agotamiento de la mayor parte de los linfocitos T de la herida disminuye la fuerza y el contenido de colágeno de la misma, en tanto que la supresión selectiva del subgrupo supresor CD8 de linfocitos T incrementa la cicatrización de la herida. Sin embargo, el agotamiento del subgrupo colaborador CD4 no tiene efecto. Los linfocitos también ejercen un efecto de disminución en la síntesis de colágeno por fibroblastos mediante interferón γ , TNF- α e IL-1 relacionados con la célula. Este efecto se pierde si las células se separan físicamente, lo que sugiere que la síntesis de la matriz extracelular no solo está regulada por factores solubles sino también por el contacto directo célula-célula entre linfocitos y fibroblastos.

2.-proliferación La fase proliferativa es la segunda fase de la cicatrización de heridas y en general abarca de los días 4 a 12. Durante ella la continuidad del tejido se restablece. Los fibroblastos y las células endoteliales son las últimas poblaciones celulares que infiltran la herida en cicatrización y el factor quimiotáctico más potente para fibroblastos es el PDGF. Tras penetrar en el ambiente de la herida, los fibroblastos reclutados necesitan proliferar primero y luego activarse para realizar su principal función de síntesis y remodelación de la matriz. Esta acción es mediada en especial por las citocinas y los factores de crecimiento que los macrófagos de la herida liberan.

Los fibroblastos aislados de heridas sintetizan más colágeno que los que no provienen de heridas, proliferan menos y efectúan de modo activo la contracción de la matriz. Aunque es claro que el ambiente de la herida abundante en citocinas tiene una función importante en esta alteración y activación fenotípicas, los mediadores exactos solo están clasificados en parte. además, el lactato, que se acumula en cantidades importantes en el ambiente de la herida con el tiempo (~ 10 mmol), es un regulador potente de la síntesis de colágeno mediante un mecanismo que incluye adenosina 5'-difosfato-ribosilación.

Las células endoteliales también proliferan en forma extensa durante esta fase de la cicatrización. Estas células participan en la formación de nuevos capilares (angiogénesis), un proceso esencial para el éxito en la cicatrización de la herida. Las células endoteliales migran de vénulas intactas cerca de la herida. Su migración, replicación y nueva formación de túbulos capilares están influenciadas por citocinas y factores de crecimiento como TNF- α , TGF β y VEGF. Aunque muchas células producen VEGF, los macrófagos representan una fuente mayor en la herida en cicatrización y en las células endoteliales se localizan específicamente receptores de VEGF.

Síntesis de matriz Bioquímica del colágeno; El colágeno, la proteína más abundante en el cuerpo, tiene una función crítica en la conclusión satisfactoria de la cicatrización de heridas en adultos.

3. maduración y remodelación

La maduración y remodelación subsecuente son esenciales para la integridad funcional de la herida. Aunque se describen cuando menos 18 tipos de colágeno, los de mayor interés para la reparación de la herida son los tipos I y III. El colágeno tipo I es el principal componente de la matriz extracelular en la piel. El tipo III, que también suele encontrarse en la piel, se torna más prominente e importante durante el proceso de reparación.

Desde el punto de vista bioquímico, cada cadena de colágeno se compone de un residuo de glicina en cada tercera posición. La segunda posición en este triplete está ocupada por prolina o lisina durante el proceso de traducción. La cadena polipéptido que se traduce del mRNA contiene cerca de 1 000 residuos de aminoácidos y se denomina protocógeno. La liberación de este último hacia el retículo endoplásmico da por resultado la hidroxilación de prolina en hidroxiprolina y de lisina en hidroxilisina mediante hidroxilasas específicas. La hidroxilasa prolil requiere oxígeno y hierro como cofactores, cetoglutarato α como cosustrato y ácido ascórbico (vitamina C) como donante de electrones. En el retículo endoplásmico, la cadena de protocógeno también se glucosila por el enlace de galactosa y glucosa a residuos específicos de hidroxilisina. Estos pasos de hidroxilación y glucosilación alteran las fuerzas de unión del hidrógeno dentro de la cadena e imponen cambios estéricos que fuerzan la cadena de protocógeno para que asuma una configuración helicoidal α . Tres cadenas helicoidales α se entremezclan para formar una estructura superhelicoidal diestra llamada procolágeno. Esta estructura contiene, en ambos extremos, dominios de péptidos no helicoidales denominados péptidos de registro. Aunque al principio están unidas por enlaces iónicos débiles, la molécula de procolágeno se torna mucho más fuerte por el enlace cruzado covalente de residuos de lisina. Fuera de la célula, los péptidos de registro no helicoidales son segmentados por una peptidasa de procolágeno y las cadenas de procolágeno se someten a polimerización y enlace cruzado adicionales. El monómero de colágeno resultante se polimeriza y establece aún más enlaces cruzados por la formación de enlaces covalentes intramoleculares e intermoleculares.

Tanto la síntesis de colágeno como las modificaciones postraduccionales dependen mucho de factores sistémicos, como aporte adecuado de oxígeno, presencia de nutrientes (aminoácidos y carbohidratos) y cofactores (vitaminas y oligoelementos) suficientes, y el ambiente local de la herida (aporte vascular y ausencia de infección). La influencia en estos factores y la reversión de las carencias nutricionales suelen optimar la síntesis y el depósito de colágeno.

Síntesis de proteoglucano Los glucosaminoglucanos comprenden una gran porción de la "sustancia fundamental" que compone el tejido de granulación. Rara vez se encuentran libres y se acoplan con

proteínas para formar proteoglucanos. La cadena polisacarida está compuesta por unidades de disacáridos repetidas, constituidas por ácido glucurónico o idurónico y una hexosamina, que suele estar sulfatada. La composición de disacáridos de los proteoglucanos varía de alrededor de 10 unidades en el sulfato de heparán hasta tanto como 2 000 unidades en el ácido hialurónico.

Los principales glucosaminoglucanos que se encuentran en heridas son el dermatán y el sulfato de condroitina. Estos compuestos son sintetizados por los fibroblastos y su concentración aumenta mucho durante las tres primeras semanas de la cicatrización. La interacción entre el colágeno y los proteoglucanos se estudia de manera activa. Se piensa que el ensamblaje de subunidades de colágeno en fibrillas y fibras depende del entramado que los proteoglucanos sulfatados proporcionan. Más aun, al parecer el grado de sulfatación es crítico para determinar la configuración de las fibrillas de colágeno. Conforme se deposita colágeno en la cicatriz, los proteoglucanos se incorporan en la estructura de colágeno. Sin embargo, el contenido de proteoglucanos disminuye en forma gradual con la maduración de la cicatriz y la remodelación del colágeno.

Maduración y remodelación La maduración y la remodelación de la cicatriz inician durante la fase fibroplástica y se caracterizan por una reorganización del colágeno sintetizado con anterioridad. El colágeno se cataboliza mediante metaloproteinasas de matriz y el contenido neto de colágeno de la herida es el resultado de un equilibrio entre la colagenólisis y la síntesis de colágeno. Ocurre un cambio neto hacia la síntesis de colágeno y por último al restablecimiento de la matriz extracelular compuesta de una cicatriz rica en colágeno hasta cierto punto acelular.

Tanto la cantidad como la calidad del colágeno recién depositado determinan la fuerza y la integridad mecánica de una herida reciente. El depósito de matriz en el sitio de la herida sigue un patrón característico: la fibronectina y el colágeno tipo III constituyen la estructura temprana de la matriz; los glucosaminoglucanos y los proteoglucanos representan los siguientes componentes importantes de la matriz, y el colágeno tipo I es la matriz final. La cantidad de colágeno en la herida llega a una meseta varias semanas después de la lesión, pero la fuerza de tensión continúa en aumento durante varios meses más.

La formación de fibrillas y el enlace cruzado de las mismas disminuye la solubilidad del colágeno e incrementa la fuerza y la resistencia a la degradación enzimática de la matriz de colágeno.

La remodelación de la cicatriz continúa durante muchos meses (6 a 12) después de la lesión y tiene como resultado la formación gradual de una cicatriz madura, avascular y acelular. La fuerza mecánica de la cicatriz nunca iguala a la del tejido no lesionado.

OCURRE UN RECAMBIO CONSTANTE DE COLÁGENO EN LA MATRIZ EXTRACELULAR, TANTO EN LA HERIDA EN CICATRIZACIÓN COMO DURANTE LA HOMEOSTASIA TISULAR NORMAL. LA COLAGENOLISIS SE DEBE A LA ACTIVIDAD DE COLAGENASA, UNA CLASE DE METALOPROTEINASA DE MATRIZ QUE REQUIERE ACTIVARSE.

TANTO LA SÍNTESIS COMO LA LISIS DE COLÁGENO ESTÁN CONTROLADAS DE MODO ESTRICTO POR CITOCINAS Y FACTORES DE CRECIMIENTO. ALGUNOS FACTORES AFECTAN AMBOS ASPECTOS DE LA REMODELACIÓN DE COLÁGENO. POR EJEMPLO, EL TGF β AUMENTA LA TRANSCRIPCIÓN DE NUEVO COLÁGENO Y DISMINUYE EL METABOLISMO DEL MISMO AL ESTIMULAR LA SÍNTESIS DE INHIBIDORES TISULARES DE METALOPROTEINASA. ESTE EQUILIBRIO ENTRE EL DEPÓSITO Y LA DEGRADACIÓN DE COLÁGENO ES EL DETERMINANTE FINAL DE LA FUERZA Y LA INTEGRIDAD DE LA HERIDA.

Epitelización En tanto la integridad y la fuerza del tejido se restablecen, también la barrera externa debe hacerlo. Este proceso se caracteriza en particular por la proliferación y la migración de células epiteliales adyacentes a la herida. El proceso inicia en el transcurso de un día de la lesión y se observa como un engrosamiento de la epidermis en el borde de la herida. Las células marginales del borde de la herida pierden sus inserciones firmes a la dermis subyacente, crecen y comienzan a migrar a través de la superficie de la matriz provisional. Las células basales fijas en una zona cercana al borde del corte experimentan una serie de divisiones mitóticas rápidas y parecen migrar moviéndose una sobre otra en forma de saltos hasta recubrir el defecto. Una vez que el defecto se cubre, las células epiteliales en migración pierden su aspecto aplanado, adquieren una forma más cilíndrica e incrementan su actividad mitótica. Las capas del epitelio se restablecen y al final la capa superficial se queratiniza. La reepitelización se completa en menos de 48 h en heridas por corte aproximadas, pero tal vez sea mucho más prolongada en heridas más grandes, que presentan un defecto epidérmico/dérmico importante. Cuando solo el epitelio y la dermis superficial se dañan, como ocurre en los sitios donantes de injertos de piel de espesor parcial o en quemaduras de segundo grado superficiales, la reparación consiste sobre todo en reepitelización sin fibroplasia, o mínima, y formación de tejido de granulación.

Aunque los estímulos para la reepitelización aún no se definen por completo, al parecer el proceso es mediado por una combinación de pérdida de la inhibición por contacto, exposición a constituyentes de la matriz extracelular, en especial fibronectina; y citocinas elaboradas por células mononucleares inmunitarias. Se demostró que en particular el factor de crecimiento epitelial, el TGF β , el factor de crecimiento de fibroblastos básico, el PDGF y el IGF1 promueven la epitelización.

Función de los factores de crecimiento en la cicatrización normal Los factores de crecimiento y las citocinas son polipéptidos que se producen tanto en tejido normal como lesionado y que estimulan la migración, la proliferación y la función celulares. Con frecuencia se denominan por las células de las que se derivaron primero (p. ej., factor de crecimiento derivado de plaquetas, PDGF) o por la primera función que se identificó (como el factor de crecimiento de fibroblastos). Estos nombres suelen ser erróneos porque ahora se sabe que los factores de crecimiento tienen múltiples funciones. Casi todos los factores de crecimiento son en extremo potentes y producen efectos importantes en concentraciones nanomolares. Pueden actuar en forma autocrina (en la que el factor de crecimiento actúa en la célula que lo produce), paracrina (mediante su liberación al ambiente extracelular, donde actúan en las células vecinas) o en una forma endocrina (en la que el efecto de la sustancia es distante al sitio en que se liberó y la sustancia se transporta al sitio efector por el torrente sanguíneo). El momento de la liberación puede ser tan importante como la concentración para determinar la efectividad de los factores de crecimiento.

Como estos polipéptidos ejercen sus efectos al unirse con receptores de superficie celular, para que el efecto biológico ocurra el receptor apropiado debe estar presente en las células que responden en el momento en que se liberan. Los factores de crecimiento tienen acciones divergentes en distintas células; pueden ser quimioatrayentes de un tipo de célula en tanto que estimulan la replicación de un tipo celular diferente. Se sabe poco de la relación de las concentraciones de factor de crecimiento, que pueden ser tan importantes como la concentración absoluta de factores de crecimiento individuales. Los factores de crecimiento actúan en las células mediante la unión a receptores de superficie. Se describen varios tipos de receptor, como canales de iones, enlazados a proteína G o a enzimas. La respuesta que despiertan en la célula suele ser de fosforilación o desfosforilación de moléculas del segundo mensajero por acción de fosfatasas o cinasas, lo que resulta en la activación o la desactivación de proteínas en el citosol o el núcleo de la célula afectada. La fosforilación de proteínas nucleares es seguida por el inicio de la transcripción de genes afectados. La señal se detiene por internación del complejo receptor-ligando.

Contracción de la herida Todas las heridas experimentan cierto grado de contracción. En heridas cuyos bordes no se aproximaron por medios quirúrgicos, el área de la herida disminuye por esta acción (cicatrización por segunda intención); el acortamiento de la cicatriz en si misma ocasiona contractura. Se postula que los miofibroblastos son las células principales que producen la contracción y difieren de los fibroblastos normales que poseen una estructura citoesqueletica. Por lo general, estas células contienen actina de musculo liso α en haces gruesos llamados fibras de

esfuerzo, que confieren capacidad contráctil a los miofibroblastos. La actina de musculo liso α no se detecta hasta el sexto día y luego se expresa cada vez más durante los siguientes 15 días de la cicatrización de la herida. Esta expresión disminuye luego de cuatro semanas y se piensa que las células experimentan apoptosis. Un punto desconcertante es que la identificación de miofibroblastos en la herida no corresponde de manera directa con el inicio de su contracción, que comienza casi de inmediato tras la lesión. Los fibroblastos dispuestos en un entramado de colágeno in vitro se mueven en forma activa en el entramado y lo contraen sin expresar fibras de esfuerzo. Se cree que la contracción depende del movimiento de las células con reorganización concomitante del citoesqueleto.



5 METODOLOGÍA

5.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la eficacia del uso de matriz extracelular derivada de la vejiga de cerdo, en la cicatrización y cierre de fistulas enteroatmosféricas?

5.2 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

¿El uso de matriz extracelular derivada de la vejiga del cerdo, acelera el cierre espontaneo de las fistulas enterocutánea?

5.3 OBJETIVOS

5.3.1 OBJETIVO GENERAL

Demostrar que la matriz extracelular derivada de la vejiga de cerdo, acelera el tiempo de cierre de fistula enteroatmosféricas y mejora la calidad de cierre y cicatrización de la misma.

5.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar el grado de fibrosis mediante microscopio, entre las fistulas enterocutáneas a las que se aplique matriz extracelular como en las que no se les aplique

Comparar el grado de angiogénesis mediante microscopio, que se presenta entre las fistulas enterocutáneas a las que se les aplica matriz extracelular como en las que no.

Tener bases científicas mediante el empleo de la medicina basada en evidencias a fin de recomendar el uso de la matriz extracelular para acelerar el cierre de fistulas enterocutáneas.

6 JUSTIFICACIÓN

Aunque se sabe que el tiempo de cierre espontaneo de una fistulas enterocutáneas, tiene un promedio de 6-8 meses pudiendo extenderse hasta 2 años y que ocasiona aumento de la morbi-mortalidad y deterioro en la calidad de vida, no se ha demostrado con certeza materiales que disminuyan el tiempo de cierre.

Por lo anterior consideramos evaluar y demostrar que la matriz extracelular derivada de la vejiga de cerdo acelera el tiempo de cicatrización y mejora la calidad de la misma en el cierre de fistulas enterocutáneas en un modelo experimental en ratas tipo wistar.

Numerosos estudios, innovaciones, y experimentos se han dado a la tarea de ofrecer alternativas para el cierre de fistulas enterocutáneas en pacientes.

El uso de la regeneración celular mediante la matriz extracelular no se ha empleado de manera directa para acelerar el cierre de fistulas por lo que este experimento, trata de ofrecer una alternativa más para el manejo complejo de las fistulas enterocutáneas.

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. DISEÑO METODOLÓGICO

El presente estudio es un estudio experimental, prospectivo, comparativo, descriptivo y analítico.

7.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

12 ratas tipo wistar sanas del bioterio de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, Se conforman 2 grupos, cada uno con selección aleatoria, de 6 ratas, un grupo control y otro experimental a ambos grupos se les creara una fistula enterocutánea. Y al grupo experimental se le aplicara matriz extracelular derivada de vejiga de cerdo en la fistula enterocutánea.

7.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- ❖ Edad (animal adulto)
- ❖ Peso (200-400gr)
- ❖ Sexo (hembra)
- ❖ Sanas
- ❖ Rata Wistar

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- ❖ Ratas fallecidas durante el procedimiento quirúrgico anestésico, o durante el tiempo en el que se lleva acabo el estudio.

VARIABLES INDEPENDIENTES

- ❖ Edad (animal adulto)
- ❖ Peso (200-400gr)
- ❖ Sexo (hembra)

VARIABLES DEPENDIENTES

- ❖ Tiempo en días de cicatrización
- ❖ Grado de fibrosis estromal
- ❖ Grado de angiogénesis
- ❖ Grado de respuesta inflamatoria
- ❖ Lumen residual

7.4 DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS

DISTRIBUCION DE LOS GRUPOS.

Mediante aleatorización, los dividimos en dos grupos de 6 integrantes:

Grupo de estudio A (6 ratas)

Mediante anestesia general a base de Ketamina y midazolam, a dosis de 50mg/kg y 5mg/kg intraperitoneales respectivamente, se realizó tricotomía, y condiciones semiesteriles se realiza

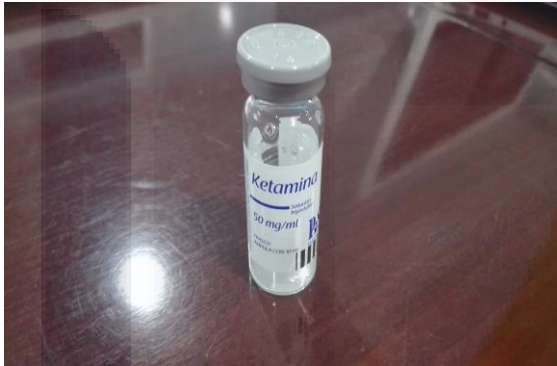


FIGURA 2.- Frasco de Ketamina



FIGURA 3.- Ampula de Midazolam



FIGURA 4.- Evisceración con exposición de ciego



FIGURA 5.- Colocación de Punto en borde antimesentérico

Incisión en línea media de aproximadamente 2 cm. Se eviscero hasta identificar el ciego, a nivel de borde antimesentérico y a 1cm aproximadamente de la válvula ileocecal se realiza incisión de 5mm aproximadamente exponiendo mucosa de ciego y realizando una pexia hacia la pared muscular del abdomen con sutura de absorción lenta (polidioxanona 6/0), con cuatro puntos para posteriormente cerrar parcialmente la piel sobre dicha incisión, provocando así una fistula

enterocutánea, Se dejó cicatrización a libre evolución, se dio alimento y agua a libre demanda. Esperando un cierre espontaneo en dicho grupo. Una vez cerrada la fistula se sacrifica al individuo en estudio para realizar biopsia de fistula y revisar al microscopio. El grado de fibrosis, angiogénesis, inflamación, resolución cutánea



FIGURA 6.- Insición advertida de ciego con exposición de mucosa y presencia o no de lumen residual.



FIGURA 7.- Fistula enterocutánea con gasto fecal

Grupo Control B (6 ratas)

A seis ratas, mediante anestesia general a base de Ketamina y midazolam, a dosis de 50mg/kg y 5mg/k intraperitoneales respectivamente, se realizó tricotomía y condiciones semisteriles se realiza

FIGURA 8.- Matriz Extracelular liofilizada

FIGURA 10.- Matriz Extracelular con diluyente

FIGURA 9.- Matriz extracelular en Vial para dilución con 10 ml





FIGURA 13.- Aplicación de matriz extracelular en fistula enterocutánea

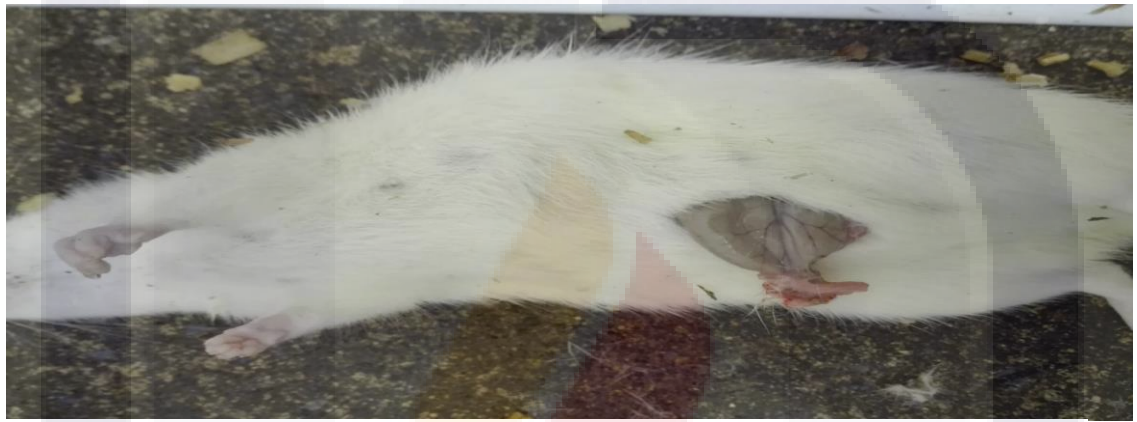


FIGURA 12.- Demostración de fistula enterocutánea



FIGURA 11.- Pieza quirúrgica de fistula enterocutánea

incisión en línea media de aproximadamente 2 cm. Se eviscero hasta identificar el ciego, a nivel de borde antimesentérico y a 1cm aproximadamente de la válvula ileocecal se realiza incisión de 5mm aproximadamente exponiendo mucosa de ciego y realizando una pexia hacia la pared muscular del abdomen con sutura de absorción lenta (polidioxanona 6/0), con cuatro puntos para

posteriormente cerrar parcialmente la piel sobre dicha incisión, provocando así una fistula enterocutánea, a este grupo se le aplicó matriz extracelular Sobre la herida un vez al día hasta obtener cicatrización de la herida y o cierre de la fistula, del mismo modo se dejó con alimento y agua a libre demanda.



7.5 DISEÑO ESTADÍSTICO

7.5.1 Variables

VARIABLES INDEPENDIENTES

- ❖ Edad (animal adulto)
- ❖ Peso (200-400gr)
- ❖ Sexo (hembra)

VARIABLES DEPENDIENTES

- ❖ Tiempo en días de cicatrización
- ❖ Grado de fibrosis estromal
- ❖ Grado de angiogénesis
- ❖ Grado de respuesta inflamatoria
- ❖ Lumen residual

7.5.2 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Mediante el programa estadístico SPSS versión 23.0 realizamos el análisis de la base de datos obtenida.

7.5.3 MODELO ESTADÍSTICO

El presente estudio es un estudio experimental, prospectivo, comparativo, descriptivo y analítico.

7.5.4 PRUEBAS ESTADÍSTICAS

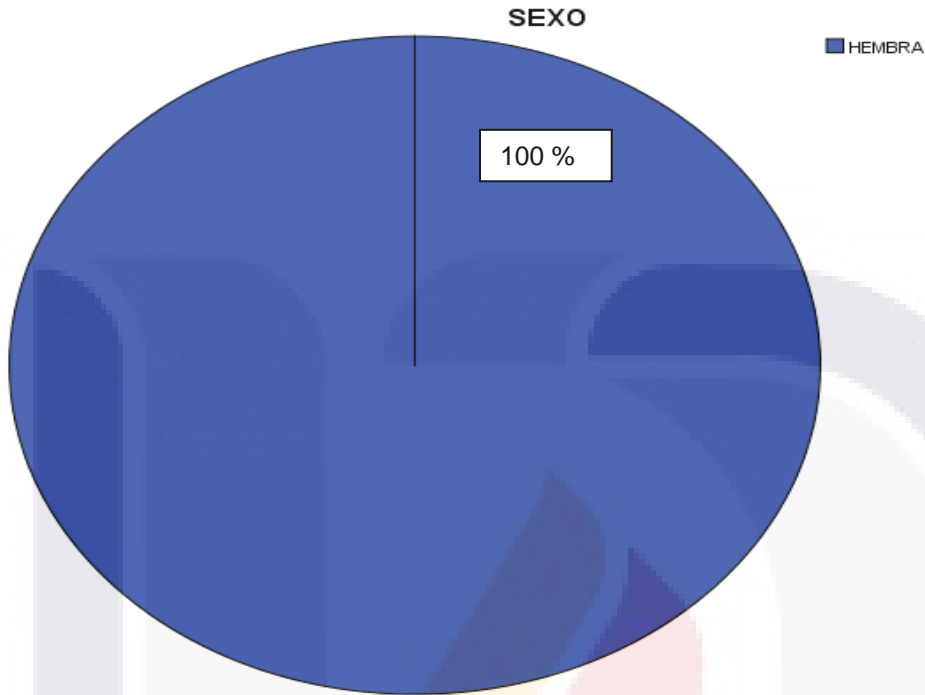
- Para las variables cualitativas utilizamos frecuencias y porcentajes.
- Para las variables cuantitativas se emplearon medidas de tendencia central y dispersión.
- Para medir la diferencia entre los dos grupos utilizamos U de Mann-Whitney tomando como significativamente estadístico un valor de $P < .05$.

8 RESULTADOS

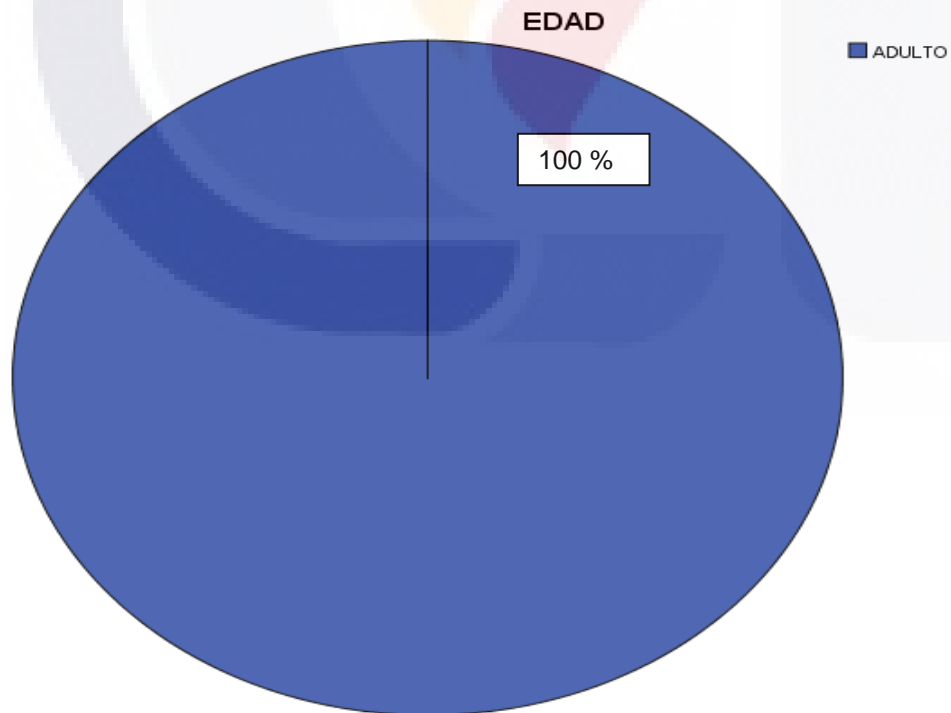
No se presentaron muertes durante el procedimiento quirúrgico, anestésico y posoperatorio. Todos los individuos de estudio fueron ratas adultas, la media del peso fue de 267.6gr y 272gr para el grupo control y experimental respectivamente, En ambos grupos se presentó el cierre macroscópico de la fistula, para el grupo control se presentó el cierre espontaneo en un promedio de 19.3 días con un rango de 18-20 días, para el grupo experimental se presentó un cierre en un promedio de 13.6 con un rango de 12-16 días, con un valor P .004.

En los resultados histopatológicos se encontró resolución cutánea en todas las muestras tanto para grupo experimental como grupo control, la fibrosis estromal para el grupo control; con fibrosis leve (+) 0 individuos, con fibrosis moderada (++) 5 (83,3%) y fibrosis severa (+++) 1 (16.7%) para el grupo experimental se encontró en un grado leve (+) 3 (50%), fibrosis moderada (++) 3 (50%) y severa (+++) en 0, la proliferación vascular (angiogénesis) se encontró para el grupo control proliferación vascular leve (+) en los 4 individuos, (66.7%) y en el resto no se encontró proliferación vascular, para el experimental el 100% presento proliferación vascular leve. El proceso inflamatorio para el grupo control se encontró; leve para 4 (66.7%) y moderado 2 (33.3%), para el grupo experimental proceso inflamatorio leve 4 (66.7%) y moderado en 2 (33.3%). La reacción granulomatosa se presentó de manera focal en 3 (50%) individuos del grupo control y en todos los del grupo experimental. Lumen residual fistuloso se encontró en grupo control; lumen residual submucoso 2 (33.3%), lumen residual hasta la muscular de la mucosa 1 (16.7%) y sin trayecto residual 3 (50%), en el grupo experimental el lumen residual fistuloso; lumen residual submucoso 2 (33.3%), y el resto 4 (100%) sin lumen residual fistuloso. Con un Valor P 0.4.

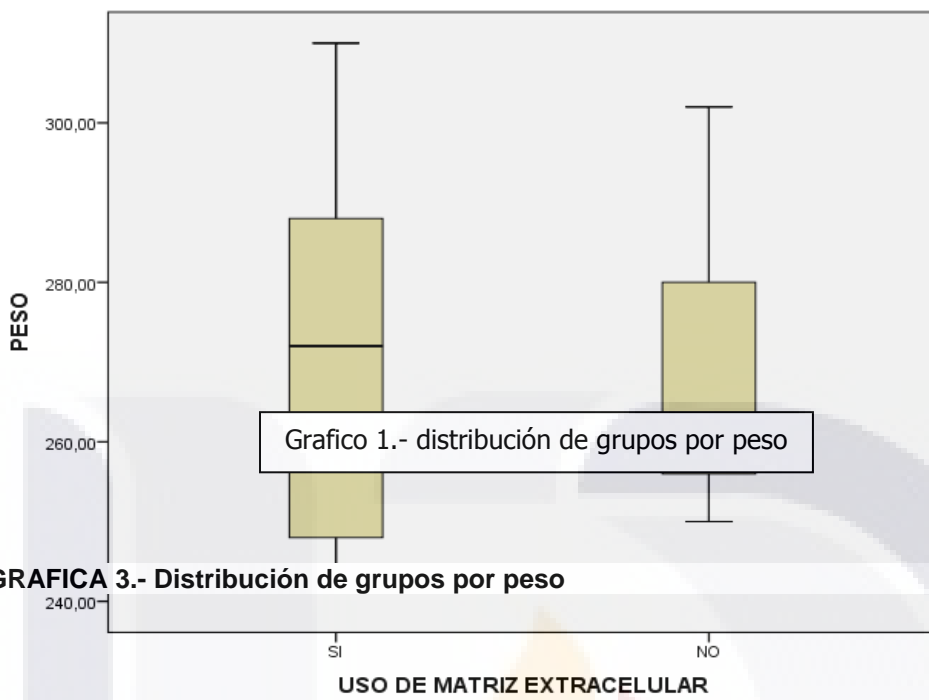
GRAFICAS Y CUADROS



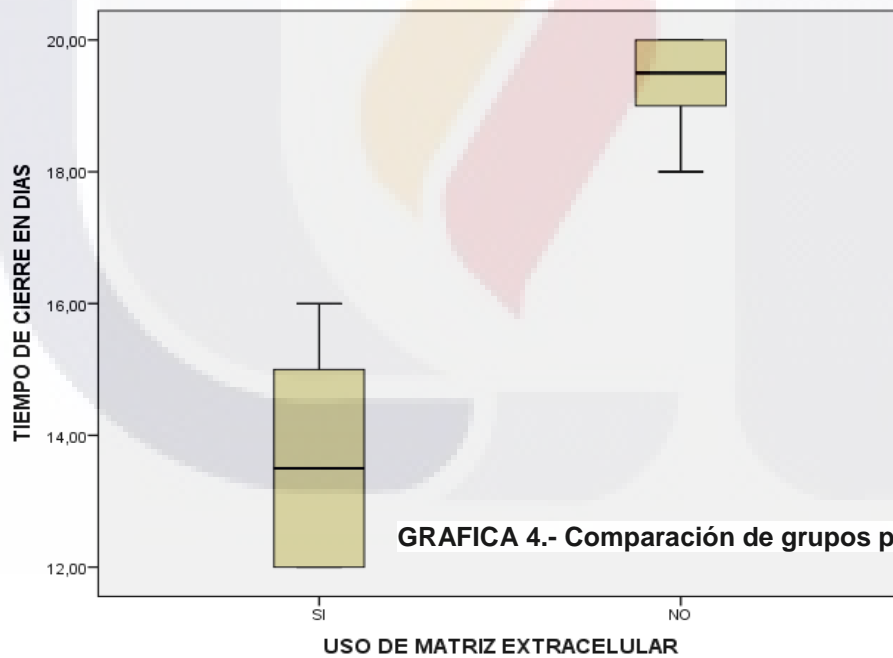
GRAFICA 1.- Distribución de grupos por sexo

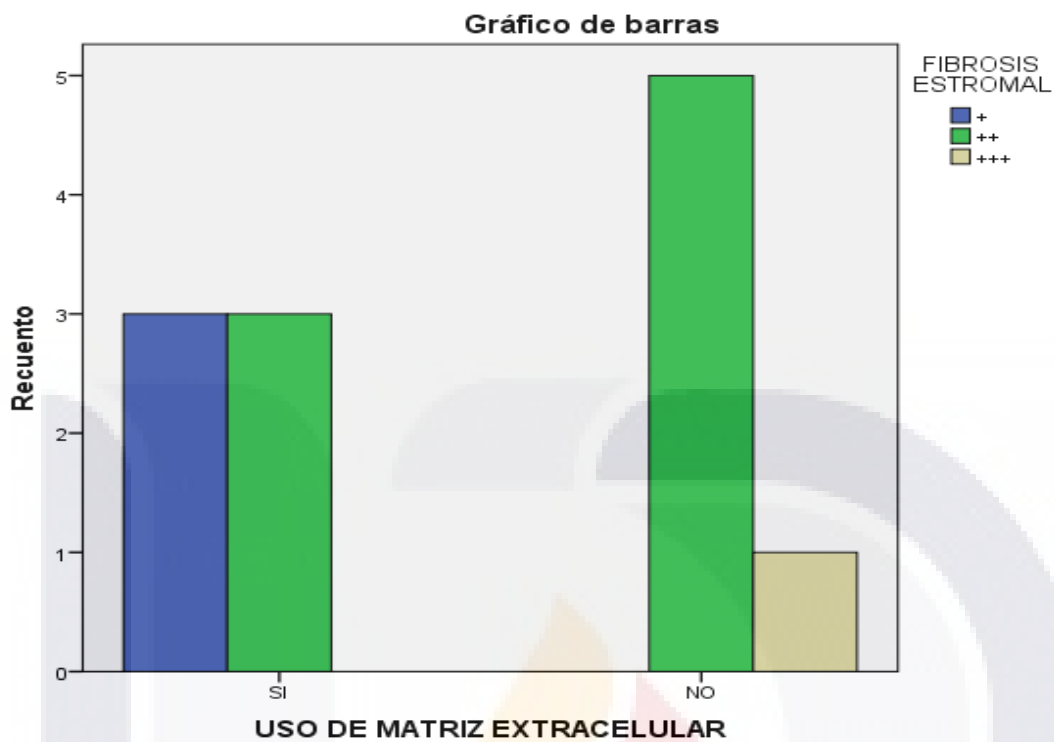


GRAFICA 2.- Distribucion de grupos por edad

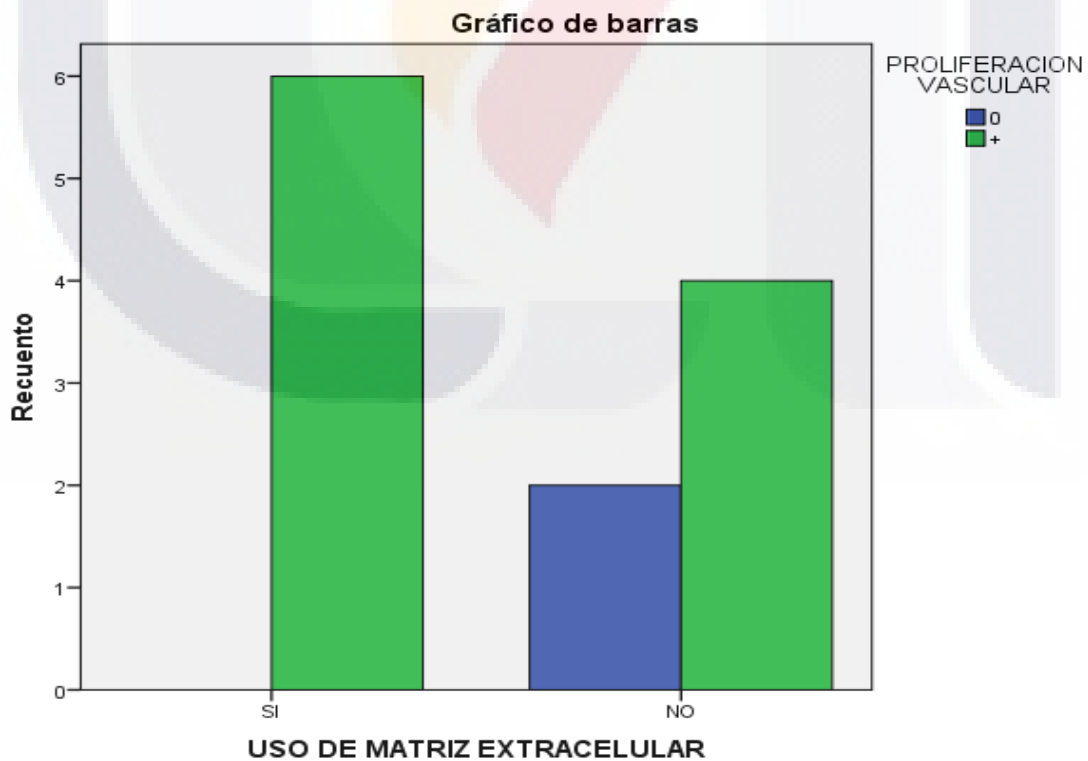


GRAFICA 3.- Distribución de grupos por peso

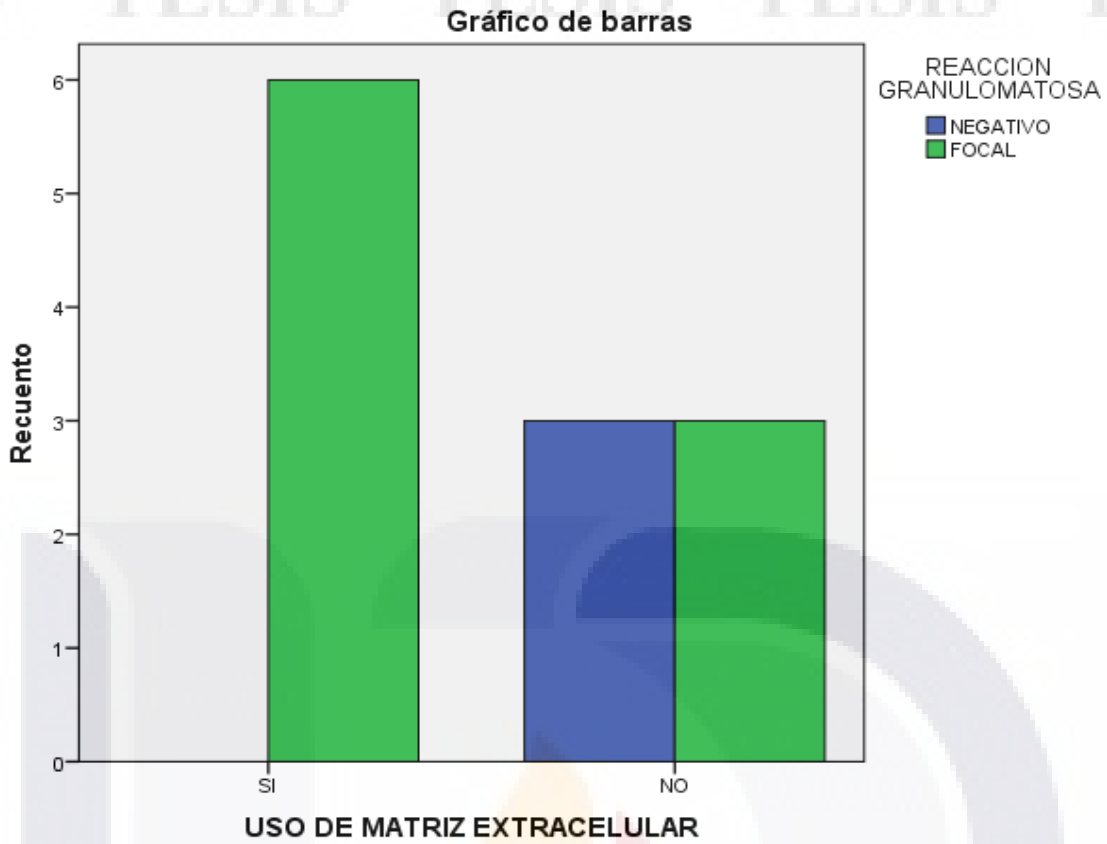




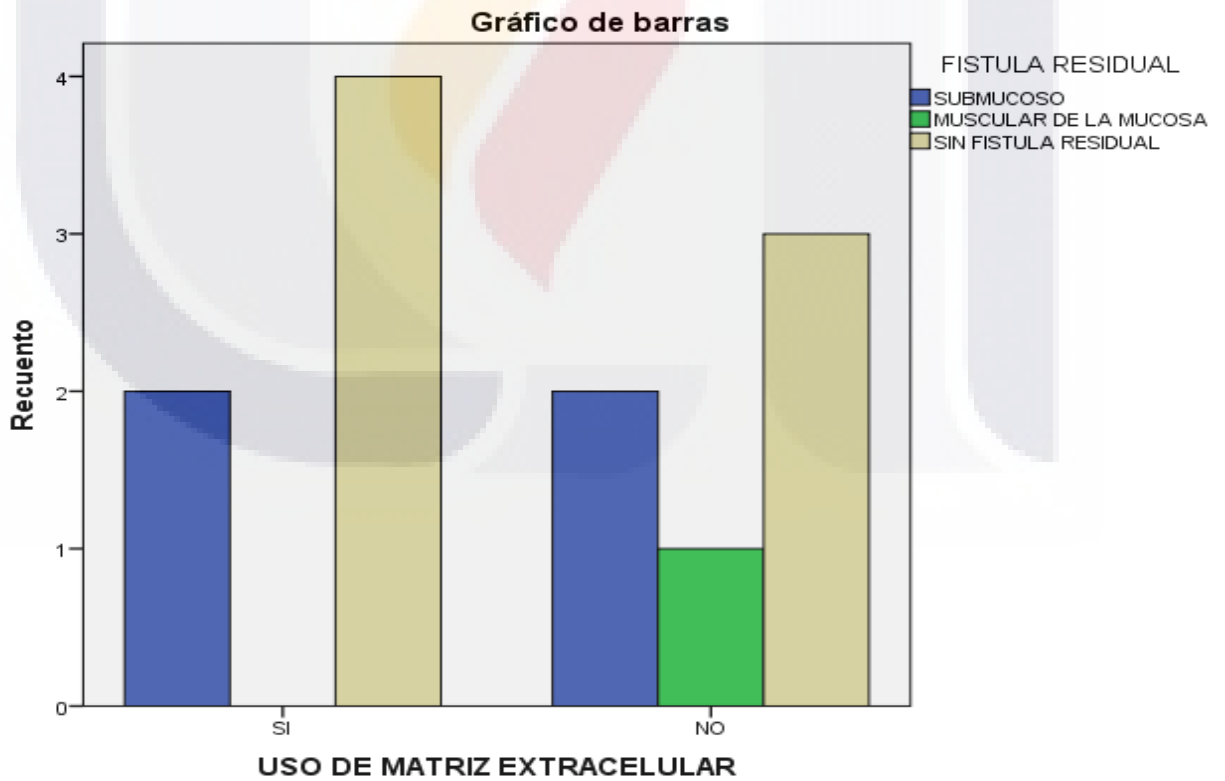
GRAFICA 6.-Comparación de grupos por grados de fibrosis estromal



GRAFICA 5.- Comparación de grupos por proliferación vascular



GRAFICA 7.- Comparación de grupos por reacción granulomatosa



GRAFICA 8.- Comparación de grupos por lumen fistuloso residual

			FIBROSIS ESTROMAL			Total
			+	++	+++	
USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	SI	Recuento	3	3	0	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
	NO	Recuento	0	5	1	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	0,0%	83,3%	16,7%	100,0%
Total		Recuento	3	8	1	12
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	25,0%	66,7%	8,3%	100,0%

CUADRO 2.- FIBROSIS ESTROMAL

			PROLIFERACION VASCULAR		Total
			0	+	
USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	SI	Recuento	0	6	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	0,0%	100,0%	100,0%
	NO	Recuento	2	4	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	33,3%	66,7%	100,0%
Total		Recuento	2	10	12
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	16,7%	83,3%	100,0%

CUADRO 1.-PROLIFERACIÓN VASCULAR

			PROCESO INFLAMATORIO		Total
			+	++	
USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	SI	Recuento	4	2	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	66,7%	33,3%	100,0%
	NO	Recuento	4	2	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	66,7%	33,3%	100,0%
Total		Recuento	8	4	12
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	66,7%	33,3%	100,0%

			RESOLUCION CUTANEA	Total
			INTEGRA	
USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	SI	Recuento	6	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	100,0%	100,0%
	NO	Recuento	6	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	100,0%	100,0%
Total		Recuento	12	12
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	100,0%	100,0%

CUADRO 4.- RESOLUCIÓN CUTÁNEA

			REACCION GRANULOMATOSA		Total
			NEGATIVO	FOCAL	
USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	SI	Recuento	0	6	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	0,0%	100,0%	100,0%
	NO	Recuento	3	3	6
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	50,0%	50,0%	100,0%
Total		Recuento	3	9	12
		% dentro de USO DE MATRIZ EXTRACELULAR	25,0%	75,0%	100,0%

CUADRO 5.- REACCIÓN GRANULOMATOSA

	FIBROSIS ESTROMAL	PROLIFERACION VASCULAR	PROCESO INFLAMATORIO	TIEMPO DE CIERRE EN DIAS	CALIDAD DE CICATRIZACION	REACCION GRANULOMATOSA
U de Mann-Whitney	7,500	12,000	18,000	,000	18,000	9,000
W de Wilcoxon	28,500	33,000	39,000	21,000	39,000	30,000
Z	-2,021	-1,483	,000	-2,913	,000	-1,915
Sig. asintótica (bilateral)	,043	,138	1,000	,004	1,000	,056
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,093 ^b	,394 ^b	1,000 ^b	,002 ^b	1,000 ^b	,180 ^b

a. Variable de agrupación: USO DE MATRIZ EXTRACELULAR

b. No corregido para empates.

CUADRO 6.- PRUEBAS ESTADISTICAS

9 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Siendo la fistula enterocutánea un problema de salud pública, y un gran reto para el cirujano, se decidió desarrollar un modelo experimental, el cual no pueda brindar una alternativa para el mejor manejo de las fistulas enterocutáneas, o bien obtener información útil para el desarrollo de nuevas herramientas para el manejo de fistulas enterocutáneas.

La matriz extracelular en la actualidad se estudia como un "órgano" y la comprensión de sus funciones cada vez en mayor, en la actualidad se emplea para la regeneración celular y tisular, de igual manera se utiliza para la creación de prótesis vasculares y mallas de pared abdominal, no existen reportes en la literatura que documenten el uso de la matriz extracelular para acelerar el cierre y mejorar la cicatrización en fistulas enterocutáneas, por lo que ha parecido una buena opción para dar inicio a una nueva alternativa para el manejo de fistulas enterocutáneas.

En la actualidad el manejo de las fistulas enterocutáneas es completamente multidisciplinario, respecto al cierre y el control de las fistulas, se pueden emplear varias técnicas quirúrgicas complejas y con bajas tasas de éxito, existen otras alternativas para manejo de las fistulas enterocutáneas, algunas de ellas que se presentan como una buena opción, son caras y de poca accesibilidad, por lo que esto incita a contribuir con una alternativa de fácil reproducción y mayor accesibilidad.

En referencia a supervivencia pronostico y calidad de vida de los pacientes con fistulas enterocutáneas, existen diversos artículos en los que se estudian múltiples factores que mejoran o retrasan el cierre de las fistulas enterocutáneas, a este respecto la disminución de mortalidad, desnutrición, y complicaciones es menor cuando hay un cierre temprano de la fistula.

Tomando en consideración estudios realizados por el doctor Stephen Badylack a cerca de la regeneración tisular mediante la matriz extracelular en donde incluso se ha logrado crear tejidos específicos (páncreas o musculo) mediante la señalización correcta atreves de la matriz extracelular hacia las células blanco, tuvimos a bien desarrollar un modelo experimental donde se pudiese usar la matriz extracelular para regenerar el tejido dañado durante la creación de la fistula enterocutánea, tanto en el grupo control como en el experimental ambos procedimientos quirúrgicos, cuidados posoperatorios, dieta, y medio ambiente en el que se desarrolló el experimento fueron lo más parecidos, para crear un entorno similar en ambos

grupos y de este modo evitar otros factores que pongan alteren la evolución libre de la enfermedad.

En la actualidad no existen escalas predeterminadas para la medición de la calidad de cicatrización mediante el microscopio por lo que usamos grados de acuerdo a la cantidad por campo de componentes específicos, que de manera indirecta nos indican la calidad de cicatrización. Una vez cicatrizada la fistula se tomó una biopsia de la misma y se analizó al microscopio, donde evaluamos el grado de fibrosis, grado de angiogénesis y grado de respuesta inflamatoria para así comparar mediante variables medibles ambos grupos.

El presente estudio demuestra la reducción del cierre en días con el uso de matriz extracelular, en la actualidad no contamos con estudios acerca del uso de la matriz extracelular en fistulas enterocutáneas, por lo que esto puede ser el inicio de una amplia gama de investigación.

En estudios como el del Dr. Daniel E. Wainstein, en el 2010, donde mediante una revisión bibliográfica de los artículos más relevantes desde 1960-2010 analizaron los retos y las complicaciones que se presentan en el manejo de las fistulas enterocutáneas, ellos concluyen que la mayoría de los casos se pueden manejar de manera conservadora, muestran el sistema VAC como una Buena opción para el manejo de las fistulas, sin embargo no en todos los nosocomios es una herramienta disponible y accesible dado el costo elevados de este producto, por lo que buscamos una herramienta de mayor accesibilidad como lo puede ser la matriz extracelular.

En el artículo; guía de manejo de fistulas enterocutáneas realizado por Rubén G. J. Visschers et al. Publicado en la revista World Journal of Surgery en el 2012, Describen detalladamente las etapas del manejo de las fistulas, en este dividen de manera sistemática y ordenada las acciones terapéuticas y diagnosticas para el manejo de las fistulas enterocutáneas, el uso de la matriz extracelular puede emplearse desde el diagnostico hasta lograr el cierre de la fistula estando presente en todas las etapas del manejo.

10 CONCLUSIONES

La matriz extracelular acelera el cierre en días de las fistulas enterocutáneas, y mejora algunos aspectos microscópicos de la cicatrización, como lo son disminución en la longitud del lumen residual fistuloso, y el grado de fibrosis estromal, por lo que parece ser una opción para disminuir el tiempo de cierre de fistulas enterocutáneas, sin embargo estamos obligados a realizar más estudios con mayor impacto y fuerza estadística. Para poder llevar a cabo el presente estudio en humanos.



11 GLOSARIO

ADHERENCIA: Son bandas de tejido similar al tejido cicatricial que se forman entre dos superficies dentro del organismo y hacen que éstas se peguen.

AMINOÁCIDO: Sustancia química orgánica que constituye el componente básico de las proteínas. Existen veinte aminoácidos distintos en el organismo humano.

ANASTOMOSIS: Es una conexión quirúrgica entre dos estructuras. Generalmente quiere decir una conexión creada entre estructuras tubulares, como los vasos sanguíneos o las asas del intestino.

ANGIOGENESIS: es el proceso fisiológico que consiste en la formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos preexistentes.

BALANCE NITROGENADO: Se refiere al balance de proteínas, porque la mayor parte del N corporal está en los aminoácidos que componen las proteínas.

CELULA MADRE MESENQUIMAL:

CITOESQUELETO: es una estructura dinámica de las células eucariotas que permite mantener o cambiar la forma celular reaccionando a estímulos externos o internos

CITOCINAS: son proteínas que regulan la función de las células que las producen sobre otros tipos celulares. Son los agentes responsables de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.

COLANGIOGRAFIA RETROGRADA ENDOSCÓPICA: Es un procedimiento para examinar las vías biliares y se realiza a través de un endoscopio, se usa para tratar cálculos, tumores o áreas estrechas de las vías biliares.

ENTERITIS POSRADIACIÓN: es una complicación frecuente de la radioterapia aplicada sobre las regiones abdominal y pélvica en el tratamiento de tumores urológicos, ginecológicos o gastrointestinales.

FIBRONECTINA: Es una glicoproteína dimérica presente en la matriz extracelular (MEC) de la mayoría de los tejidos celulares animales compuesta por dos subunidades muy largas unidas por puentes disulfuro situados cerca del extremo carboxilo.

FIBROSIS ESTROMAL: La fibrosis es el reemplazo del tejido glandular de otro tipo de tejido, como una cicatriz y la esclerosis = endurecimiento es tejido de la cicatriz

GASTROSTOMÍA: es una intervención que consiste en la apertura de un orificio en el abdomen para introducir una sonda de alimentación en el estómago, lo que

permite comunicar al estómago con el exterior. La colocación de una sonda permite introducir la alimentación directamente en el estómago.

GLUTAMINA: es un aminoácido no esencial, esto quiere decir que nuestro cuerpo lo puede crear a partir de otros aminoácidos pero hay ocasiones en las que este aminoácido se convierte en esencial en nuestra alimentación.

LIPOLISIS: La lipólisis o lipólisis es el proceso metabólico mediante el cual los lípidos del organismo son transformados para producir ácidos grasos y glicerol para cubrir las necesidades energéticas.

LIOFILIZACIÓN: Método de conservación de una cosa que consiste en deshidratarla sometiéndola a una rápida congelación y eliminando el hielo posteriormente mediante un ligero calentamiento al vacío que lo transforma en vapor

MECANOTRANSDUCCIÓN: Es el proceso de transducción de señales celulares en respuesta a los estímulos mecánicos.

N-BUTIL 2 CIANOACRILATO: el cianoacrilato es un líquido incoloro con propiedades adhesivas.

NUTRICIÓN ENTERAL: es una técnica de soporte nutricional que consiste en administrar los nutrientes directamente en el tracto gastrointestinal mediante sonda.

NUTRICIÓN PARAENTERAL: La alimentación parenteral es una técnica de soporte nutricional artificial cuyo objetivo es mantener el estado nutricional correcto del paciente cuando la vía enteral es inadecuada o insuficiente.

OCTREÓTIDO: El octreótido es un fármaco terapéutico, análogo de la somatostatina natural y, por tanto, con efectos farmacológicos parecidos a ésta. La diferencia con la somatostatina natural la marca la duración de la acción, la cual es más larga en el fármaco análogo

PASATA KARAYA: Pasta que se usa para la protección de la piel y de la perilesión en úlceras y cuidados de estomas intestinales.

TENSEGRIDAD: Es un principio estructural basado en el empleo de componentes aislados comprimidos que se encuentran dentro de una red tensada continua, de tal modo que los miembros comprimidos (generalmente barras) no se tocan entre sí y están unidos únicamente por medio de componentes traccionados (habitualmente cables) que son los que delimitan espacialmente dicho sistema

TRASLOCACIÓN BACTERIANA: La traslocación bacteriana constituye el paso de las bacterias y sus productos a través de la mucosa gastrointestinal hacia la circulación sistémica.



BIBLIOGRAFÍA

1. Management of external small bowel fistulae: Challenges and controversies Confronting the general surgeon, 2010; International Journal of Surgery 9 (2011) 198-203.
2. Guided Treatment Improves Outcome of Patients with Enterocutaneous Fistulas World J Surg (2012) 36:2341–2348.
3. Porcine Small Intestine Submucosa as a Treatment for Enterocutaneous Fistulas Vol. 194, No. 4, April 2002 541-543.
4. Small bowel fistulas and the open abdomen Scandinavian Journal of Surgery 96: 2007 263–271.
5. Use of OTSC Device System for Closure of Fistulas in the Alimentary Tract – A Case Series Video Journal and Encyclopedia of GI Endoscopy (2014)1, 647–650
6. Extracellular Matrix Biomaterials for soft tissue Repair clinical pediatric med. Surg. 26 (2009) 507-523.
7. Regulation of Extracellular Matrix Proteins and Integrin Cell Substratum Adhesion Receptors on Epithelium during Cutaneous Human Wound Healing in Vivo American Journal of Pathology, Vol. 143, (1993) 1458-1467
8. The effects of stent interaction on porcine urinary bladder matrix employed as stent-graft materials Journal of Biomechanics 47 (2014) 1885–1893
9. Aurora A, McCarron J, Iannotti JP, Derwin K (2007) Commercially available extracellular matrix materials for rotator cuff repairs: state of the art and future trends. J Shoulder Elbow Surg 16: S171-178.
10. Badylak SF (2007) The extracellular matrix as a biologic scaffold material. Biomaterials 28: 3587-3593.
11. Badylak SF, Tullius R, Kokini K, Shelbourne KD, Klootwyk T, Voytik SL, Kraine MR, Simmons C (1995) The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for Achilles tendon repair in a dog model. J Biomed Mater Res 29: 977-985.
12. Badylak SF, Brown BN, Gilbert TW, Daly KA, Huber A, Turner NJ (2011) Biologic scaffolds for constructive tissue remodeling. Biomaterials 32: 316-319.

13. Bolland F, Korossis S, Wilshaw SP, Ingham E, Fisher J, Kearney JN, et al. Development and characterisation of a full-thickness acellular porcine bladder matrix for tissue engineering. *Biomaterials* 2007 Feb;28(6):1061–1070.
14. 7. Brown AL, FarhatW, Merguerian PA, Wilson GJ, Khoury AE,Woodhouse KA. 22 week assessment of bladder acellular matrix as a bladder augmentation material in a porcine model. *Biomaterials* 2002 May;23(10):2179–2190.
15. Kochupura PV, AzelogluEU, KellyDJ,Doronin SV, Badylak SF, KrukenkampIB, et al. Tissue-engineered myocardial patch derived from extracellular matrix provides regional mechanical function. *Circulation* 2005 Aug 30;112(Suppl. 9):I144–149.