



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Enfermería

**D^a MAGDALENA MARRERO MONTELONGO, SECRETARIA DEL
DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS
PALMAS DE GRAN CANARIA,**

CERTIFICA,

Que el Consejo de Doctores del Departamento en su sesión de fecha 14 de diciembre de 2012 tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "Evolución cicatricial de úlceras cutáneas experimentales inducida por productos clínicos de limpieza de heridas", presentada por el doctorando D. Rodrigo Chacón Ferrera y dirigida por los Doctores D. Juan Fernando Jiménez Díaz, D^a M^a del Pino Quintana Montesdeoca, D. Carmelo Monzón Moreno y D^a Guillermina Bautista Harris.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 14 de diciembre de dos mil doce.



Anexo II

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Departamento/Instituto/Facultad: Enfermería

Programa de doctorado " Avances en Traumatología,
Medicina del Deporte y Cuidados de Heridas"

Título de la Tesis

**"Evolución cicatricial de úlceras cutáneas
experimentales inducida por productos clínicos de
limpieza de heridas"**

Tesis Doctoral presentada por D. Rodrigo Chacón Ferrera

Dirigida por el Dr. D. Juan Fernando Jiménez Díaz

Codirigida por la Dra. D^a. M^a Pino Quintana Montesdeoca

Codirigida por el Dr. D. Carmelo Monzón Moreno

Codirigida por el Dra. D^a. Guillermina Bautista Harris

El Director

La Codirectora

El Codirector



La Codirectora

El Doctorando



Las Palmas de Gran Canaria, a 10 de Diciembre de 2012

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



Programa de Doctorado Interdepartamental
(Departamentos de Ciencias Médicas y Quirúrgicas,
Educación Física y Enfermería)
Dpto. Coordinador: Ciencias Médicas y Quirúrgicas



TESIS DOCTORAL

**“Evolución cicatricial de úlceras cutáneas
experimentales inducida por productos
clínicos de limpieza de heridas”**



Doctorando:
Rodrigo Chacón Ferrera
2012

AGRADECIMIENTOS

A mi director Dr. D^o Juan Fernando Jiménez Díaz, por su guía constante y sus valiosas aportaciones en el desarrollo de este trabajo.

A mis codirectores, la Dra. D^a M^a Pino Quintana Montesdeoca, el Dr. D^o Carmelo Monzón Moreno y la Dra. D^a Guillermina Bautista Harris, por sus orientaciones, sus valiosas y oportunas críticas, su preocupación y ayuda en especial en el análisis estadístico, microbiológico e histológico.

Mi reconocimiento a quienes han colaborado en este trabajo, gracias Natalia y Martín técnicos del estabulario, Fabiola y Juan Francisco técnicos de morfología y Pedro técnico de ilustración, por la ayuda en el cuidado de los animales, la preparación y fotografía de muestras histológicas y maquetación del texto.

A quienes siempre me apoyaron y estimularon para alcanzar metas superiores en el plano profesional y personal, mis padres: Francisco (in memoriam) y M^a Teresa.

De manera especial, agradezco la ayuda, comprensión, paciencia y ánimos de mi familia. Magüi, Claudio, Rodrigo y Victor.

Sin todos ellos no hubiera llegado a buen puerto esta tesis.
A todos muchas gracias.

ÍNDICE

1.-Introducción	/13
1.1.- Concepto de heridas	/18
1.2.- Recuerdo anatómico y funcional de la piel	/21
1.3.- Recuerdo histórico del cuidado	/36
1.4.- Fisiopatología de la cicatrización	/41
1.5.- Tipología de las heridas	/61
1.6.- Clínica de las heridas	/64
1.7.- Limpieza de heridas	/66
1.8.- Contaminación de las heridas	/72
1.9.- Complicaciones en la resolución de heridas	/77
2.- Justificación y objetivos	/87
2.1.- Justificación	/89
2.2.- Objetivos	/95
3.- Material y métodos	/97
3.1.- Condiciones de trabajo	/100
3.2.- Ulcerometría Planimétrica	/102
3.3.- Histología	/106
3.4.- Microbiología	/107
4.- Resultados	/117
5.- Discusión	/185
6.- Conclusiones	/203
7.- Bibliografía	/209

1

Introducción

1.-INTRODUCCIÓN

El cuidado de las heridas ha constituido desde el inicio de la humanidad una preocupación de primer orden, son múltiples las referencias a esta situación a través del desarrollo de la humanidad y por las diferentes culturas.

Una herida, produce un daño en la piel que puede afectar a parte de ella o a su totalidad y además a los tejidos y órganos internos, es por tanto un daño que se produce en el cuerpo de un humano o animal. Puede ser producida por múltiples causas, aunque

generalmente es debido a traumatismos como golpes o desgarros en la piel.

Las heridas son episodios frecuentes en el ser humano, durante su vida diaria, y comportan una atención de los servicios sanitarios a los pacientes portadores de estas lesiones, tanto de tipo agudo como crónico.

Teniendo en cuenta la tendencia actual al envejecimiento de la población y conociendo que los cambios en la fisiología de la piel de las personas mayores pueden aumentar el riesgo de que ésta se lesione, siendo éste uno de los problemas añadidos a ese envejecimiento, se convierte así en más cotidiano, acrecentando este problema aún más, suponiendo estos episodios de lesiones de la piel una carga cada vez mayor para los servicios sanitarios.

Para realizar el cuidado de una herida, entre otras cuestiones hay que atender a su abordaje con el objetivo de que se produzca su cierre en las condiciones más idóneas posibles.

En función de sus características, como: profundidad, extensión, localización, grado de limpieza, cuerpos extraños, grado de contaminación bacteriana, afectación de tejidos, etc., el abordaje requerirá diversas intervenciones incluida la quirúrgica, como la utilización de diferentes productos y apósitos que procurarán su resolución y cierre. Independientemente de la intervención que se realice, siempre se utilizan productos hídricos, ya sea para la limpieza de la herida, su hidratación siguiendo los principios de cura húmeda, la disminución de la flora bacteriana habitual por mecanismo de arrastre y también para eliminar restos de material como pomadas de curas e intervenciones anteriores.

Esta utilización de productos de limpieza de heridas en todas las intervenciones que se hacen sobre las mismas, y las cada vez más numerosas intervenciones destinadas a su resolución por lo mencionado anteriormente, es lo que lleva a preguntarnos si los diferentes productos ejercen algún efecto en la resolución de las mismas.

Así pues, nuestro trabajo se centra en plantear esta investigación con la finalidad de valorar si los diferentes productos utilizados en la clínica de forma habitual en la limpieza de heridas, tienen efectos distintos en el favorecimiento del cierre de las mismas.

Los diferentes productos objeto de esta investigación serán:

Agua destilada, Agua oxigenada, Suero fisiológico y Suero glucosado.

1.1.-Concepto de heridas

Herida es una lesión física caracterizada por un desgarramiento de la piel y que por lo general es el resultado de un accidente o traumatismo más que de una enfermedad, como por ejemplo las heridas por armas de fuego o las heridas punzantes ¹.

Con frecuencia, los traumatismos producen como resultado una herida corporal es decir una ruptura o pérdida de continuidad en la piel, de las mucosas, de

los huesos o de algún órgano corporal ².

Como consecuencia de la agresión de este tejido existe riesgo de infección y posibilidad de lesiones en órganos o tejidos adyacentes: músculos, nervios, vasos sanguíneos, etc. Las heridas pueden ser graves en función de una o varias de estas situaciones.

Las heridas corporales pueden ser intencionadas o no intencionadas, los traumatismos intencionales se producen en el transcurso de un tratamiento como por ejemplo las intervenciones quirúrgicas, las punciones venosas, etc. Por el contrario las heridas no intencionadas son accidentales, por ejemplo tras una fractura los tejidos se traumatizan ³.

Cuando los traumatismos son cerrados, se denominan contusiones y no hay afectación de la piel; cuando son abiertos se denominan heridas.

Por tanto podemos definir también heridas como la presencia de una solución de continuidad en la piel y mucosas producidas por un agente físico, químico o

mecánico ⁴.

Las heridas incluyen cortaduras, arañazos y picaduras en la piel. Suelen ocurrir como resultado de un accidente o una lesión, pero las incisiones quirúrgicas, las suturas y los puntos también causan heridas. Las heridas menores no suelen ser serias, pero hasta las cortaduras y los arañazos pueden necesitar atención para evitar infecciones y acelerar la curación ⁵.

Autores como Fonder et. al. ⁶, proponen algunas actuaciones que hay que tener con ellas, que se resumen en las siguientes:

Aplique presión con una gasa limpia para detener la hemorragia

Limpie la herida con agua

Use un ungüento antibiótico para prevenir las infecciones

Cubra la herida con una venda si está en un área que puede ensuciarse

Vigile la hinchazón (edema) y enrojecimiento

Aplique un refuerzo contra el tétanos si le corresponde

Haciendo especial hincapié en el lavado de manos, como fase previa a la cura de cualquier herida.

Cuando la herida se extiende a tejidos internos y órganos, y como resultado de la lesión en estas estructuras, el daño adquiere mayor gravedad y dependerá de los tejidos y estructuras afectados, por lo que no siendo objeto de este trabajo, nos extenderemos a precisar los mismos.

Todo lo expuesto, parece indicarnos que la resolución de las heridas, requiere de una serie de intervenciones de cierta complejidad.

1.2.-Recuerdo anatómico y funcional de la piel

Hace más de cien años, Virchow ⁷ describió la piel como una cubierta protectora de otras vísceras internas más delicadas y de función más sofisticada, en aquella época, se creía que la piel era fundamentalmente una barrera pasiva contra la pérdida de líquidos y las agresiones mecánicas.

La investigación científica, ha demostrado que la piel es un órgano complejo, en el que las interacciones celulares controlan muchas respuestas importantes frente al medio ambiente; ahora sabemos que está formada por diversos tipos de estructuras celulares independientes que actúan en conjunto por un mismo objetivo protector ⁸.

La piel es el órgano más extenso del cuerpo, al que recubre en su totalidad, teniendo múltiples funciones como son ⁹:

1. Barrera protectora
2. Absorbe y elimina líquidos
3. Regula la temperatura
4. Impide la pérdida y la entrada de agua
5. Absorbe y filtra radiaciones
6. Metabolismo de la Vitamina D
7. Tiene funciones sensitivas y cosméticas

8. Impide la entrada de microorganismos

Teniendo en cuenta estas importantes funciones, podemos afirmar que la piel es esencial para la supervivencia de una persona, forma una barrera que impide que sustancias y microorganismos nocivos penetren en el cuerpo, protege a los tejidos corporales contra lesiones, controla también la pérdida de líquidos fundamentales para la vida como la sangre y el agua, nos ayuda a regular la temperatura corporal a través de la transpiración y nos protege de los rayos ultravioleta nocivos del sol. Sin las terminaciones nerviosas en nuestra piel no podríamos sentir calor, frío u otras sensaciones.

Cada pulgada cuadrada de piel contiene miles de células y cientos de glándulas sebáceas, glándulas sudoríparas, terminaciones nerviosas, vasos sanguíneos y folículos pilosos.

Las características (es decir, el grosor, el color, la textura) de la piel no son uniformes en todo el cuerpo. Por ejemplo, la cabeza presenta más folículos pilosos y por tanto glándulas sebáceas que cualquier otra parte, mientras que la planta de los pies y la palma de las

manos no tienen. Además, la piel de la planta de los pies y de la palma de las manos es más gruesa.

Además de actuar como escudo protector contra el calor, la luz, lesiones e infecciones, la piel también almacena agua y grasa ⁹.

La piel, es un órgano delgado, relativamente plano, clasificado como una membrana, la membrana cutánea.

A efectos de descripción, tomaremos la siguiente distribución. La piel está compuesta por las siguientes capas, cada una de ellas desempeña distintas funciones ¹⁰:

- a. Epidermis.
- b. Dermis.
- c. Capa de grasa subcutánea.

a. Epidermis

Según Junqueira ¹¹, la epidermis es la capa externa y delgada de la piel, presenta un epitelio escamoso

estratificado queratinizado externo que se autorregenera.

Las capas de la epidermis se ven mejor en la piel gruesa, por ejemplo, la de la planta del pie. Las células producidas por mitosis en la capa basal germinal adyacente a la dermis sufren cambios madurativos relacionados con la producción de queratina, la capa externa queratinizada sufre una descamación continua y es sustituida gracias al movimiento y maduración progresivos de las células procedentes de la capa germinal; por tanto, todas las células de esta estirpe se denominan queratinocitos. La frecuencia de las mitosis de la capa germinal suele ser equivalente a la velocidad a la que se desprende la queratina de la superficie más externa; en el hombre, el proceso de maduración desde la célula basal hasta el momento de la descamación dura de 25 a 50 días, siendo mas rápido en las zonas expuestas a las fuerzas de fricción más intensas.

Las fases de este proceso dinámico se reflejan en cuatro capas con morfología distinta ¹²:

a.1. *Capa córnea*

Esta capa corresponde a los restos aplanados y fusionados de las células y consiste en queratinocitos completamente maduros que contienen proteínas fibrosas (queratinas). Las queratinas son un complejo de proteínas existiendo dos formas, la queratina blanda que constituye la mayor parte de queratina que cubre la superficie cutánea y la queratina dura que forma el pelo y las uñas.

a.2. *Estrato granuloso*

Esta capa, que se encuentra debajo del estrato córneo, se caracteriza por gránulos intracelulares que contribuyen al proceso de queratinización y contiene queratinocitos activos (células escamosas), que maduran y forman el estrato córneo.

a.3. *Estrato espinoso*

O de Malpighi, llamado así por el aspecto “espinoso” de las células, está formado por múltiples hileras de queratinocitos, de

citoplasma eosinófilo, aplanados y unidos entre sí por puentes intercelulares, estos puentes intercelulares son desmosomas y es debido a su presencia por lo que se llaman así, estas células se encuentran en proceso de crecimiento e inician la síntesis de queratina.

a.4. *Capa basal*

Es la capa germinal. La actividad mitótica en esta capa proporciona un suministro constante de nuevos queratinocitos que sustituyen a los perdidos por el desgaste y la descamación normales. Es la capa más profunda de la epidermis y está constituida por una sola capa de células cuboidales que se disponen por encima de la unión dermo-epidérmica, estas células basales se dividen continuamente, formando nuevos queratinocitos que reemplazan a los antiguos que se desprenden de la superficie cutánea ¹³.

El queratinocito, es la célula con mayor presencia en la epidermis (representa el 80% de las células

epidérmicas). Los queratinocitos forman parte de las 4 capas de la epidermis.

Las células epidérmicas están unidas entre sí por medio de los puentes de uniones intercelulares, fundamentalmente desmosómicas, constituidos por varias proteínas.

La epidermis está separada de la dermis por la membrana basal, constituyendo la denominada unión dermo-epidérmica. La membrana basal es una estructura compleja formada por una capa extracelular de sostén, que separa a un epitelio del tejido conectivo subyacente, en este caso la epidermis de la dermis ¹⁴.

La membrana basal contiene varios componentes, un engrosamiento compuesto por un reticulado de finos filamentos denominado lámina densa, que se compone fundamentalmente de laminina (glucoproteína adhesiva), colágeno tipo IV, entactina (glucoproteína sulfatada), perlecana (proteoglucano de gran tamaño); la laminina fija la lámina densa a las células epiteliales suprayacentes, un dominio se une a los receptores de superficie de las células epiteliales, mientras que otro

se une al colágeno tipo IV; la entactina une la laminina y el colágeno tipo IV ¹⁵.

A esta le sigue una membrana celular de células epiteliales; entre la lámina densa y la membrana celular se distingue una capa poco electrodensa denominada lámina lúcida; en conjunto, la lámina densa y la lámina lúcida, se denomina lámina basal; por debajo de la lámina basal se encuentra una zona angosta, compuesta por fibras reticulares integrada por proteínas y polisacáridos, denominada lámina reticular y junto con la lámina basal constituyen la membrana basal.

La membrana basal cumple varias funciones importantes ¹⁶:

1. Actúa como sostén del epitelio.
2. Actúa como filtro molecular pasivo, retienen moléculas sobre la base de tamaño, forma o carga eléctrica.
3. Actúa como filtro celular, permite el pasaje de

ciertas células, entre ellas, glóbulos blancos, relacionados con la defensa contra microorganismos invasores; mientras impide que otros tipos de células del tejido conectivo ingresen al epitelio ^{11, 14}.

4. En relación con los procesos de cicatrización, actúa como capa de sostén para el ingreso (migración) de células nuevas desde los bordes circundantes de la herida hacia la zona dañada.

La zona especializada donde las células de la epidermis se unen con las células del tejido conjuntivo de la dermis se denomina unión dermoepidérmica.

b. Dermis

La dermis es la capa media de la piel. Representa un tejido fibroelástico, formado por una red de colágeno y fibras elásticas proporcionando una base flexible pero a la vez resistente a la epidermis. La dermis contiene también una generosa irrigación con redes vasculares dispuestas paralelamente a la superficie cutánea y

conectadas entre sí, que suponen una generosa irrigación vascular para la epidermis avascular e interviene en la termorregulación ¹⁴.

En la dermis podemos encontrar fibras (de colágena, elásticas y reticulares), células (fibroblastos, mastocitos y macrófagos), elementos vasculares, neurales y anejos cutáneos (pelos, glándulas ecrinas, apocrinas y sebáceas).

Sin determinadas moléculas en la dermis, nuestra piel no podría estirarse cuando nos inclinamos ni volver a su posición cuando nos enderezamos. Estos dos tipos de moléculas, colágeno y elastina, se combinan en fibras en la dermis para facilitar el movimiento. El colágeno es resistente y difícil de estirar y la elastina, como su nombre indica, es elástica. En las personas mayores, parte de las fibras que contienen elastina desaparecen, por lo que la piel luce arrugada

La dermis se puede dividir en dos partes: la dermis papilar o superficial y la dermis reticular o media ¹¹.

b.1. La dermis subyacente al epitelio o dermis papilar localizada por debajo de las papilas dérmicas, es una capa que está formada por tejido conectivo laxo y es de la que depende la nutrición del epitelio, está formada por vasos sanguíneos y linfáticos así como terminaciones nerviosas, también es rica en fibras de colágeno y tejido conectivo.

b.2. La dermis más profunda o dermis reticular es una capa de tejido conjuntivo relativamente denso y vascular que puede tener más de 4 mm de espesor en algunas zonas del cuerpo. La dermis reticular está formada por gruesos haces de colágeno y vasos sanguíneos. El fibroblasto es la célula más presente y tiene como misión la fabricación de los elementos fibrosos de la dermis, especialmente colágena, también segrega los componentes de las fibras elásticas y los proteoglicanos de la matriz extracelular. Las fibras elásticas son un componente importante de las dos capas de la dermis.

En esta capa se encuentran los receptores sensoriales, del dolor y del tacto.

c. Hipodermis o subcutis

Es la capa más profunda de la piel, está compuesta por una red de tejido conjuntivo laxo, rica en grasa y en tejido areolar

Esta capa es de espesor variable. El contenido graso de la hipodermis varía según el estado de las células grasas y de las fibras de colágeno en esta zona, participando en la relativa movilidad de la piel. En las profundidades se une a las fascias musculares o bien al periostio ¹¹.

Dejando de lado algunos pocos lugares del cuerpo, en la totalidad de la hipodermis se puede almacenar tejido adiposo, el cual cumple funciones aislantes, de almacenamiento y modeladoras que ayuda a conservar el calor corporal y protege el cuerpo contra lesiones puesto que amortigua los impactos.

Una vez comentadas las distintas capas de la piel, haré referencia a la fascia muscular, ya que es una estructura de separación con los músculos y que se puede ver alterada cuando se produce una herida que

afecte a toda la estructura de la piel ¹⁶.

La palabra latina fascia significa etimológicamente banda, siendo empleada por primera vez por Celso, enciclopedista romano del siglo I d.C..

Posteriormente, es Galeno el primero que las considera en relación con la piel; es decir, lo que hoy consideramos como tejido celular subcutáneo. Fue mas tarde Vesalio, en el siglo XVI, el primero que, en su sistemática de disección, relaciona el concepto fascia con la membrana próxima a determinados músculos. Winslow es el primero que comienza a sistematizar esta relación con todos los músculos, como vaina de envoltura de los mismos, lo que posteriormente será corroborado por otros autores ¹⁷.

Las fascias son vainas, hojas u otros agregados de tejido conectivo fibroso, no tendinoso, disecable. Según su mecanismo de formación se pueden diferenciar tres tipos: fascias de condensación, fusión y migración.

Las fascias musculares, son por tanto membranas que rodean a las células del músculo esquelético, que son

las encargadas de realizar los movimientos voluntarios, estas células pueden ser gigantes y poseen una constitución sincitial, es decir gran número de núcleos en un citoplasma común. Dado el sincronismo del núcleo y del citoplasma y las características de ser plurinuclear, la reproducción resultaría un proceso complejo y difícil para una célula muscular que posee un citoplasma altamente ordenado en actina y miosina, por lo que prácticamente podemos decir que la célula muscular no se reproduce de forma clásica ¹¹.

La célula muscular esquelética se desarrolla por fusión de mioblastos ya que éstos si pueden dividirse mitóticamente, pero en la consecución de esta fusión, muchos genes diferentes se activan de forma coordinada y en los adultos, estos mioblastos permanecen en estado quiescente en forma de células satélites.

Cuando un músculo se lesiona, estas células satélites adquieren el papel de células madre, que se activan, proliferan y se fusionan para sustituir las células musculares que se han perdido, estando modulada esta activación por la estimulación de la placa motriz.

1.3.-Recuerdo histórico del cuidado

Podemos decir que el cuidado de las heridas es tan antiguo como la humanidad, según restos encontrados en el valle de Dussel (Alemania), en el Neandertal, ya se utilizaron hierbas para tratar las heridas por quemaduras ¹⁸.

Otros autores como Harvey ¹⁹ refieren que desde 3000 años a.C., las heridas hemorrágicas eran tratadas cauterizando las mismas, el uso de torniquete es descrito en 400 a.C., la sutura es documentada desde el siglo 3 a.C..

Algo más reciente, en la cultura egipcia, encontramos descripciones de métodos para el manejo de heridas, en forma de emplastos, con utilización de mezclas de sustancias como la mirra, la goma, el aceite caliente y las resinas de árboles, como se describe en el papiro de Ebers, además, son pioneros en mencionar los principios básicos del manejo de las heridas: lavar, cubrir e inmovilizar ¹⁹.

Con más o menos relevancia, todas las culturas van

desarrollando las formas de curación y cuidados de heridas, siguiendo el principio de tratamiento que ya enunciaron los egipcios ²⁰.

En época más reciente y coincidiendo fundamentalmente con las campañas de conquista de territorio, la generalización de las guerras, y la aparición de la pólvora, las heridas se hicieron más graves y se produce un gran desarrollo en su tratamiento. El barbero-cirujano francés Ambroise Paré, en 1585 orientó el tratamiento de las heridas (generalmente por armas de guerra) ²⁰ proponiendo el desbridamiento, la aproximación de los bordes y las curas con vendajes limpios y cambios frecuentes, rechazando el uso de aceite caliente o hierros encendidos para cauterizar las lesiones.

Se le considera un revolucionario respecto a la cirugía, escribió un tratado sobre "Tratamiento de las heridas por arma de fuego". Paré era un ardiente defensor del poder de curación de la naturaleza, siendo autor de la frase "yo lo vendé, Dios lo curó" ¹⁸.

En esta época de conflictos bélicos, se hizo necesaria la intervención de la empresa para garantizar la curación

de los soldados, que habían sufrido algún tipo de herida, con el propósito de reintegrarlos lo más rápido posible a su regimiento, en esa época, se inicia la producción en masa de vendajes para los heridos. En la Guerra de Crimea el gobierno inglés produce vendajes de esta forma y en este periodo, destaca sobremanera el personaje de Florence Nightingale, enfermera encargada del cuidado de los heridos de guerra, quien impulsó la atención esmerada de los heridos y el desarrollo de curaciones de las heridas, teniendo como principal objetivo de su cuidado la higiene.

En el mismo siglo, con el descubrimiento de los “gérmenes” por Louis Pasteur, probando que la infección no aparecía espontáneamente, y con base en los estudios de Joseph Lister, se introdujo el uso de vendajes impregnados en antisépticos como el ácido carbólico ²¹.

Posteriormente y ya en el siglo XX, se produce una revolución de la terapéutica con la aparición de la penicilina ¹⁸.

Otro personaje como Hipócrates, respecto al tratamiento de las heridas, acuñó el lema de “ayudar a la Naturaleza”. Considerando que el cuerpo está compuesto por cuatro cualidades básicas: calor, frío, sequedad y humedad y que tanto el exceso como el defecto de los mismos causan enfermedad.

Por otro lado el lema “es la naturaleza, y no los medicamentos lo que cura las heridas”, se constituyó como el Método Magatiano y se instauró como base del tratamiento de heridas durante los siglos XVII y XVIII, apoyándose en dos principios: ²²

(a) A menor cambio de apósitos, menor posibilidad de lesionar nuevos tejidos.

(b) La necesidad de utilizar tratamientos locales sencillos para el cuidado de las heridas.

Si indagamos en la historia de los tratamientos en heridas, observamos vestigios apoyando la cura húmeda:

Esta misma autora Bellón ²², refiere que desde que se demostraran los beneficios de la cura húmeda, ha sido

numerosa la evidencia a través de los estudios realizados, apoyando este tipo de cura.

Y desde 1994 existe una sociedad científica en nuestro país que trabaja en pro de facilitar las mejores evidencias en el abordaje de los pacientes portadores de heridas,²³ denominado Grupo Nacional de Estudio y Asesoramiento en Úlceras Por Presión (GNEAUPP), de forma similar a experiencias en otros países (EPUAP a nivel europeo, NPUAP en Estados Unidos de América, y Canadá).

En la actualidad, en relación a la cura húmeda o la cura tradicional, tenemos soporte científico más que suficiente como para elegir la primera, ^{22,23,25} ya desde 1962, en el que se publican los trabajos de George Winters, ^{24,25} quién introduce el concepto de “cura en ambiente húmedo”, pues a partir de ese momento, se revoluciona el manejo de las heridas, pues demostró a partir de estudios con animales, que la cicatrización en ambiente húmedo era mucho mejor y más rápida que en ambiente seco.

En la historia del cuidado de las heridas, este descubrimiento representa un hito y modifica desde ese momento el tratamiento de las lesiones, considerándose a partir de entonces la curación en ambiente húmedo como relevante en contraposición a la curación tradicional que se producía hasta entonces.

23

Esta situación relatada, permanece hasta la actualidad, propiciando este hecho el desarrollo de una gran gama de vendajes o apósitos que mantienen la humedad en la herida y evitan su desecación ^{24, 25}.

Por lo que Bellón apostilla: Cura húmeda y cura tradicional, es como “el Bien y el Mal”. ¡Yo me quedo con la evidencia: La cura húmeda!. Aunque para ello tenga que cambiar mis costumbres ²².

1.4.-Fisiopatología de la cicatrización

En la piel cutánea, a la hora de producirse la cicatrización de una herida, los fibroblastos de la dermis se reproducen con rapidez y empiezan a formar

una masa de nuevas fibras de tejido conjuntivo. Si esta masa no es sustituida por tejido normal, queda una cicatriz ^{26 - 28}.

Cuando se produce una herida, la reparación de los tejidos se va a realizar en dos procesos distintos:

La regeneración, o sustitución de las células lesionadas por otras de la misma clase, a veces sin que queden huellas residuales de la lesión anterior, o a través de la sustitución por tejido conjuntivo, llamada fibroplasia o fibrosis, que deja una cicatriz permanente.

Tanto la regeneración como la fibroplasia dependen básicamente de los mismos mecanismos que intervienen en la migración, proliferación y diferenciación celular, así como las interacciones célula-matriz ²⁸.

Estas últimas son especialmente importantes. Para que la regeneración del tejido epitelial de la piel y las vísceras sea ordenada es necesario que exista membrana basal (MB). Esta matriz extracelular (MEC)

especializada funciona como una trama o andamiaje extracelular que ayuda a lograr una reconstrucción exacta de las estructuras preexistentes. Gracias a la integridad de la MB se obtiene la especificidad y la polaridad celular, además de influir en la migración y el crecimiento celular.

En los tejidos del adulto, la masa de una población celular está determinada por la velocidad con que se producen la proliferación, la diferenciación y la muerte celular por apoptosis ²⁹.

Sea cual sea el tipo de herida, el tipo de reparación de tejidos y de la extensión que abarque la pérdida de tejido, la cicatrización y curación de la misma discurre en varias fases que se desarrollan y solapan en el tiempo, a saber:

1. *Fase inflamatoria y/o exudativa*, con hemostasia y limpieza de la herida
2. *Fase proliferativa o etapa de granulación*, con reconstrucción de los tejidos
3. *Fase de remodelación, con contracción y maduración* de la herida

1. La fase inflamatoria /exudativa

La fase inflamatoria / exudativa se inicia en el momento en que se produce la herida y su duración es aproximadamente de tres días dependiendo de las condiciones fisiológicas ¹³. Las primeras reacciones vasculares y celulares consisten en la coagulación y la hemostasia.

En esta fase, y a través de la dilatación y un aumento de la permeabilidad vascular, se fomenta la migración de los leucocitos hacia la zona de la herida, sobre todo de granulocitos y neutrófilos, cuya función prioritaria consiste en limpiar y proteger a la herida de posibles infecciones a través de la fagocitosis.

Al mismo tiempo se liberan mediadores bioquímicamente activos, que activan y estimulan células de gran importancia para la siguiente fase del proceso curativo de la herida como factores de crecimiento, fibrinógeno y fibronectina ²⁸.

El sistema de coagulación se activa a través de la denominada cascada de coagulación y en la cual intervienen aproximadamente 30 diferentes factores,

con la finalidad de producir una redícula de fibrina compuesta por fibrinógeno.

Con la colaboración de los trombocitos, se origina un coágulo que detiene la hemorragia, cierra la herida y la protege de posibles contaminaciones bacterianas y de la pérdida de humores.

Una vez formado el coágulo de fibrina y plaquetas en la zona lesionada, el proceso de la aglomeración de trombocitos y los procesos de coagulación sanguínea ha de ser controlado para evitar la oclusión trombótica en las zonas no dañadas. En la sangre en circulación se controla continuamente el proceso de coagulación mediante sustancias del sistema fibrinolítico (disolventes de coágulos), como la proteína C, la proteína S y la trombomodulina, que constituyen un importante sistema de control que restringe la coagulación a la zona de la lesión para que los procesos trombóticos no pongan en peligro a la totalidad del organismo ²⁸.

Las reacciones inflamatorias se presentan en todas las heridas y representa una reacción de defensa del organismo cuyo objetivo es la eliminación de los

agentes nocivos, o en su defecto su inactivación, la limpieza del tejido y también establecer las condiciones óptimas para los sucesivos procedimientos proliferativos ^{30, 31}.

La inflamación se caracteriza por presentar como síntomas: el rubor, el calor, el tumor o hinchazón y el dolor.

La vasodilatación, provoca un aumento de la permeabilidad vascular con un aumento de la exudación de plasma sanguíneo en el intersticio. Este proceso se inicia aproximadamente 10 minutos después de que se produzca la herida, continúa entre una y dos horas. Esto conduce a que se produzca una intensa irrigación sanguínea en la zona de la herida y un incremento del metabolismo local tan necesario para que se lleve a cabo la eliminación de los agentes nocivos.

Transcurridas aproximadamente entre dos y cuatro horas después que se produce la herida y dentro del marco de las reacciones inflamatorias se inicia la migración de leucocitos, que van a fagocitar detritos,

además de material y gérmenes exógenos. Esto representa una primera limpieza de la herida ³¹.

En esta primera fase de la cicatrización aumenta el consumo de oxígeno, el metabolismo de fosfolípidos y el consumo de glucosa, pues, una forma de provocar una aceleración de la cicatrización de las heridas consiste en inducir una reacción inflamatoria ³².

Durante esta fase inicial de la inflamación, los granulocitos neutrófilos, se encargan de liberar diversas sustancias mensajeras estimulantes de la inflamación, las llamadas citocinas (TNF- α e interleucinas), fagocitan bacterias, pero también liberan enzimas disgregadores de proteínas, que se encargan de eliminar las partes dañadas y sin vitalidad de la matriz extracelular. Los neutrófilos atacan la contaminación por bacterias pero, al parecer, no son esenciales para que haya cicatrización de las heridas ya que se ha demostrado que la neutropenia no interfiere con el proceso de cicatrización, mientras que los monocitos o macrófagos fagocitan bacterias y neutrófilos liberando sustancias con actividad biológica que favorecen el desbridamiento tisular y secretan

factores de crecimiento ³¹.

Transcurridas 24 horas y a continuación de los granulocitos, se produce la migración de los monocitos hacia el sector de la herida, actuando como macrófagos en la zona de lesión, e interviniendo de manera decisiva en el proceso a través de la liberación de citocinas y de factores de crecimiento ³³.

La migración de leucocitos, se va a detener en caso de que la herida se encuentre limpia en un plazo aproximado de 3 días, sin embargo, si hay infección, la migración se mantiene y se intensificaría la fagocitosis, prolongándose la fase inflamatoria y retrasando la curación de la herida.

Los fagocitos cargados de detritos y el tejido descompuesto conforman el pus. La destrucción del material bacteriano en el interior de las células solo puede llevarse a cabo con la ayuda del oxígeno, por ello es de gran importancia para la defensa contra las infecciones que la zona de la herida se encuentre constantemente provista de suficiente cantidad de oxígeno ³⁴.

La curación de una herida no sería posible sin la participación de los macrófagos. Los macrófagos tienen su origen en los monocitos, cuya diferenciación y activación en macrófagos tiene lugar en la zona de la herida. Atraídos mediante estímulos quimiotácticos provocados por toxinas bacterianas y la activación adicional a través de los granulocitos neutrófilos, las células migran en densas filas desde la sangre en circulación hasta llegar a la herida. En el marco de sus funciones fagocitadoras, que representan el máximo grado de actividad de las células, los macrófagos no limitan sus funciones a la mera acción directa sobre los microorganismos, sino que también ayudan en la presentación de antígenos a los linfocitos.

Los antígenos que son capturados y parcialmente modificados por los macrófagos son puestos a disposición de los linfocitos en una forma reconocible.

Los macrófagos liberan además citocinas que fomentan las inflamaciones como la interleucina-1, (IL-1), factor de necrosis tumoral α , (TNF- α) y diversos factores de crecimiento como el factor básico de crecimiento fibroblástico (FbCF), factor de crecimiento epidérmico

(FCE), factor de crecimiento trombocítico (FCT), así como también los factores de crecimiento tumoral - α y - β (FCT - α y - β).

Estos factores de crecimiento son polipéptidos que influyen de diversas maneras sobre las células que intervienen en la curación de la herida: atraen células y fomentan la circulación en el sector de la herida (quimio-taxis), estimulan la proliferación y diferenciación celular.

Posteriormente y cuando se ha producido el desbridamiento del sitio lesionado, el macrófago activado puede ser dañino para las células sanas. Así, para proteger al tejido normal se suprime la actividad de los macrófagos. Se cree que el factor FCT- β participa en esta supresión, porque se ha informado que desactiva la producción de superóxido de los macrófagos ^{35 - 39}.

Además, el factor FCT-beta puede regular y controlar la actividad de otros factores de crecimiento como el FbCF ²⁷.

Los linfocitos y sus productos como las interleukinas e interferones también interactúan con los macrófagos durante la fase inflamatoria, lo que vincula la reacción inmunitaria con la cicatrización de las heridas ⁴⁰.

De esta forma, el macrófago amplifica, orquesta y sostiene el proceso de cicatrización de la herida ³³.

2. La fase proliferativa o de granulación

En esta fase de la curación de la herida predomina la rápida proliferación celular con el fin de alcanzar la reconstitución vascular y de volver a rellenar la zona defectuosa mediante el tejido granular ⁴¹. Esta fase comienza aproximadamente a partir del cuarto día desde que se produjo la herida, las condiciones necesarias ya han sido comentadas en la fase anterior, los fibroblastos ilesos de los tejidos colindantes pueden migrar al coágulo y a la redícula de fibrina que han sido formados mediante la coagulación sanguínea y utilizarla como matriz provisoria, las citocinas, y los factores de crecimiento estimulan y regulan la migración y proliferación de las células encargadas de la reconstitución de tejidos y vasos.

Reconstitución vascular y vascularización

La curación de la herida no puede progresar sin nuevos vasos, ya que éstos deben garantizar un aporte adecuado de sangre, oxígeno y sustancias nutritivas ⁴¹,
⁴².

La reconstitución vascular se inicia desde los vasos intactos que se encuentran en el borde de la herida. Gracias a la estimulación de los factores de crecimiento, las células de la capa epitelial, que revisten las paredes vasculares (endotelio), están capacitadas para degradar su membrana basal, para movilizarse y proceder a migrar a la zona lesionada y al coágulo sanguíneo colindante. A través de sucesivas divisiones celulares en este lugar se origina una figura canaliculada, la cual se vuelve a dividir en su final adquiriendo una forma de botón. Estos botones vasculares individuales crecen uno encima de otro y se unen formando asas vasculares, que a su vez se seguirán ramificando, hasta que se topen con un vaso aún mayor en el que pueden finalmente desembocar ⁴². Sin embargo, recientemente se han descubierto en la sangre células germinales endoteliales, las cuales

ponen en entredicho la doctrina vigente hasta el momento.

Una herida bien irrigada se encuentra extremadamente vascularizada. Incluso la permeabilidad de los nuevos capilares que se han formado es mucho más alta que la de los capilares normales, con lo cual se responde al aumento del metabolismo de la herida. Sin embargo los nuevos capilares tienen una menor capacidad de resistencia ante las sobrecargas producidas de forma mecánica, es por ello que se debe proteger la zona de la herida contra posibles traumatismos. Con la posterior maduración del tejido granular que se transforma en tejido cicatricial también se vuelven a reducir nuevamente los vasos ⁴³.

Junto con la reconstitución vascular, a partir del cuarto día de producirse la herida comienza a rellenarse la zona defectuosa mediante nuevo tejido. Se desarrolla el denominado tejido granular, cuya formación es iniciada preponderantemente por los fibroblastos. Éstos producen por una parte colágeno extracelular, que madura fuera de las células hasta transformarse en una fibra y le otorga su resistencia al

tejido, y por otra parte también proteoglicanos que constituyen la sustancia básica de tipo gelatinoso del espacio extracelular ⁴⁴.

Los fibroblastos fusiformes no son transportados en exclusiva hasta la herida mediante la circulación sanguínea, sino que proceden también de los tejidos locales lesionados y son atraídos por quimiotaxis. De forma simultánea los fibroblastos utilizan la retícula de fibrina que se formó durante la coagulación sanguínea como matriz para la formación de colágenos. La estrecha relación que existe entre los fibroblastos y la retícula de fibrina condujo en el pasado a la hipótesis, de que la fibrina se transformaba en colágeno. Lo cierto, sin embargo, es que con la progresiva constitución del colágeno se va degradando la retícula de fibrina, los vasos cerrados son nuevamente recanalizados. Este proceso, que es controlado por la enzima plasmina, se denomina fibrinólisis ⁴⁴.

El alcance de este proceso de granulación se corresponde de forma directa con la importancia de la coagulación sanguínea y la dimensión del incidente inflamatorio, incluido el desbridamiento endógeno

llevado a cabo con la ayuda de la fagocitosis.

La reepitelización de la herida comienza a las pocas horas de producida la lesión, migrando las células epiteliales desde los bordes de la herida, con ulterior desplazamiento a partir de folículos pilosos y elementos procedentes de las glándulas sebáceas pero se intensifica durante esta mitosis rápida conforme emigran células a lo largo del nuevo puente de fibrina dispuesto. La migración epitelial continúa hasta que las células contactan entre sí, lo que produce inhibición por contacto e indica el fin de la expansión epitelial y el comienzo de la queratinización, transformándose dichas células epiteliales a su fenotipo no migratorio ⁴⁵.

El tejido granular que participa de forma esencial en este proceso de reparación, puede ser descrito como una primitiva y transitoria unidad hística que cierra la herida y hace las veces de base para la sucesiva epitelización. Tras haber cumplido con su cometido se va transformando paso a paso en tejido cicatricial.

La denominación de tejido de granulación, como

apunta Romanelli ⁴¹ fue introducida por Billroth en el año 1865 y tal definición obedece a que durante el desarrollo del tejido pueden visualizarse en la superficie pequeños gránulos rosados y vítreotransparentes. A cada uno de estos pequeños gránulos corresponde un arbolillo vascular con cuantiosos y finos nudos capilares, como los que se originan durante la reconstitución vascular.

Sobre los nudos se asienta el nuevo tejido. Al producirse una óptima granulación los gránulos se van agrandando con el paso del tiempo y aumentan también su número, de tal modo que finalmente se forma una superficie húmeda, brillante y de color rojo asalmonado.

Este tipo de granulación es síntoma de una curación bien encaminada. En los casos de procesos de curación alterados o estancados, cuando la granulación se encuentra recubierta con costras pegajosas, presenta un aspecto pálido, fofo y poco consistente o tiene una coloración azulada ²⁸.

3. Fase de remodelación o de contracción

En esta fase de la reparación de las heridas, que ocurre aproximadamente entre el 6º y el 10º día, se produce el comienzo de la maduración de las fibras de colágeno. La herida se contrae, cada vez más, se reduce la presencia vascular y de agua en el tejido granular, por lo que aumenta su consistencia y se transforma finalmente en el tejido cicatricial, disminuyendo por otra parte el número de fibroblastos y macrófagos. Este proceso incluye la reconstitución de las células epidermales a través de la mitosis y la migración celular, principalmente desde los bordes de la herida ³³.

Durante esta última fase, la contracción de la herida ⁴⁶ conduce, por medio de las sustancias tisulares no destruidas, a que la zona de “reparación incompleta” se mantenga lo más reducida posible y las heridas cierren de forma espontánea ⁴⁷.

Los fibroblastos del tejido granular tienen una intervención mucho más decisiva en la contracción, ya que una vez finalizan sus actividades de secreción se

transforman tanto en fibrocitos como en miofibroblastos. Los miofibroblastos se asemejan a las células musculares lisas y, al igual que éstos, contienen actomiosina, una proteína muscular que hace posible las contracciones ^{32, 48 - 50}.

Hay autores como Van Winkle ⁵¹ que apuntan que la locomoción de fibroblastos se basa en la premisa de que el movimiento de fibroblastos individuales a través de la herida produce redistribución local de la matriz de tejido conectivo vecino. Lo más probable es que in vivo tengan lugar varios fenómenos y se combinen para causar la contracción de la herida necesaria para una cicatrización normal ^{32, 51}.

En la epitelización de la herida con pérdida de la epidermis, las células basales empiezan su diferenciación y migración, inicialmente formando una sola capa, el resto de capas se producen por mitosis. Esto se debe sobre todo a los factores de crecimiento epidérmico liberados por los macrófagos y plaquetas que inician éste proceso, pero dicho proceso es limitado y la muerte tisular lo retarda, es un proceso que puede demorar desde 3-5 días hasta meses o años.

Al comienzo se forma la primera capa y el resto se van produciendo por mitosis ¹¹.

Ya en una fase tardía, caracterizada por la síntesis proteica con formación de colágeno y matriz, encontramos que los fibroblastos han sido activados para producir factores de crecimiento. La producción de colágeno es iniciada por activación del factor de crecimiento estimulante de fibroblastos, dependiendo este hecho de varios factores, entre ellos la presencia de: hierro, Vitaminas C y A, Zinc, Cobre y O₂. ¹²

La síntesis se realiza en el fibroblasto y la molécula luego de adquirir su estructura terciaria es liberada en forma de procolágeno. La producción de colágeno es máxima a las primeras dos semanas y alcanza el máximo de su depósito en 3- 4 semanas. La matriz intersticial es producida por los fibroblastos y otras células. Los proteoglicanos (principal componente de la matriz) son compuestos de glucosaminoglicanos y proteínas.

Esto hace que se produzca una matriz más rígida en los estadios iniciales de la cicatriz, con la maduración de la misma disminuye su concentración con la consiguiente pérdida de rigidez.

Puede citarse como excepción de la cicatrización que solamente las excoiaciones superficiales de la piel cicatrizan según el patrón de regeneración fisiológica, en virtud del cual, la reparación resultante queda completa y uniforme.¹³

Todas las demás heridas reemplazan la pérdida de tejido, como ya se especificó, mediante la migración celular desde el borde de la herida y el mantenimiento de las restantes formaciones anexas de la piel.

El resultado de esta reepitelización no representa un reemplazo de la piel en toda regla, sino que es un tejido sustitutivo delgado y avascular, al que le faltan componentes esenciales de la epidermis como las glándulas y los pigmentóforos, e importantes atributos de la piel, como por ejemplo una aceptable inervación¹³.

De esta forma, la gestión de lesiones en la piel para lograr un aspecto de la cicatriz más óptima, debe tener en cuenta de manera general los mecanismos de cicatrización de las heridas, las fases generales de la cicatrización de heridas cutáneas y los factores que influyen en la misma²⁶.

1.5.- Tipología de las heridas

Hay muchas clasificaciones para etiquetar a las heridas, recibiendo diferentes denominaciones, a saber: en relación a la profundidad de la misma, en relación con el agente que la produce o según el riesgo de la herida para infectarse. Los más utilizados por su significación clínica son los que hacen mención al agente causal de las mismas y a la profundidad, en este sentido podemos clasificarlas según diversas causas como: ^{10,13,52}

Según el agente causal:

Abrasiones: El mecanismo de producción es la fricción o el rozamiento que lesionan la capa exterior de un tejido. La mayoría de las abrasiones se producen en la piel, como las quemaduras por rozamiento contra una superficie.

Herida Punzante: el agente traumático es de punta fina y escaso diámetro, suele tener mayor gravedad por la posibilidad de dañar estructuras internas.

Heridas Contusas: de bordes irregulares donde se produce afectación de tejidos superficiales y profundos, se pueden presentar con o sin solución de continuidad de la piel. Como resultado de un golpe directo, el tejido y los capilares quedan dañados y pierden líquidos y sangre. Esto causa dolores, hinchazón y decoloración. Las contusiones en huesos y músculos pueden producir una pérdida de función. Las contusiones en tejidos profundos, el corazón, los pulmones, el cerebro, los riñones u otros órganos aumentan en gravedad y pueden poner en peligro la vida del individuo.

Cortes: El tejido blando puede cortarse o desgarrarse de tres modos generales. A continuación refiero breves descripciones de estos tipos de cortes:

Laceraciones: Las laceraciones son cortes desiguales del tejido blando causadas por el golpe de un objeto romo. Son más profundas que las abrasiones y producen una hemorragia regular. Por ejemplo, un jugador de baloncesto puede sufrir una

laceración en torno al ojo después de recibir un codazo en el rostro.

Incisiones: Las incisiones son cortes regulares, el agente es un objeto de punta afilada, se caracterizan por presentar bordes definidos. Por lo general sangran en abundancia y con rapidez.

Avulsiones: Son desgarramientos completos del tejido. Según se produzca solo lesión de la piel o con pérdida de sustancia y según el lugar donde se produzca va a recibir diferentes nombres, como heridas con colgajo, pediculadas, scalp, etc. según la profundidad de estas lesiones podemos encontrarnos lo siguiente:

a Heridas Superficiales, donde la afectación no pasa de la piel, se afecta la epidermis, dermis, o tejido subcutáneo

b Heridas Profundas, afecta a tejidos más profundos, a cavidades naturales, (abdomen, tórax, articulaciones,...). o a vísceras albergadas en aquellas cavidades ⁵³.

1.6.- Clínica de las heridas

Las heridas, según su gravedad, pueden tener repercusiones sistémicas, como la hemorragia aguda, pudiendo llegar a producirse situaciones de hipovolemia o síndrome vaso vago, producidos por el dolor y la emotividad ⁵³.

Las manifestaciones clínicas más usuales son las de carácter local, entre otras, la separación de bordes de la herida, la hemorragia y el dolor.

Separación de bordes

Producidos como consecuencia de la pérdida de la solución de continuidad, y en relación con la profundidad de la herida va a tener una separación variable, siendo mayor en heridas profundas, si hay afectación de tejido celular subcutáneo aumenta la separación si el tejido adiposo es grande.

Hemorragia

Siendo esta mayor o menor según los distintos vasos afectados, arterias, venas, etc. y la cantidad y el grosor de los mismos, pudiendo a su vez ser interna o externa, por lo que podemos encontrarnos diferentes tipos de sangrados de forma pura como sangrado sin presión y de forma difusa (sangrado en sábana), sangrado sin presión y de forma continua (sangrado venoso), o por el contrario sangrado pulsátil coincidiendo con el latido del pulso cardíaco (sangrado arterial), aunque en la práctica ⁵³, lo más común es que se produzca una hemorragia mixta, es decir con una mezcla de los tres tipos

Dolor

Por afectación de la estructura nerviosa vecina a la herida, la intensidad del dolor va a depender de: Localización, Complejidad y Umbral del dolor.

Así, aumenta en intensidad en áreas muy inervadas como el pulpejo de dedos, boca, etc. también la complejidad y el tipo de herida condiciona la

intensidad de la sensación dolorosa, siendo las heridas contusas más dolorosas que las incisas. Y por último, el umbral de dolor del paciente condiciona la percepción del dolor ⁵⁴.

Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), “el dolor es una desagradable experiencia sensorial y emocional, asociada a un daño tisular real o potencial, que se describe en términos de dicho daño” ⁵⁵.

1.7.- Limpieza de heridas

Una fase del cuidado de las heridas que es algo consustancial en todas ellas es la limpieza de las mismas, por la aportación de hidratación colaborando en la curación por cura húmeda y minorando la colonización bacteriana por mecanismo de arrastre mecánico, por lo que tiene gran importancia.

Torra y Bou ⁵⁶, señala que el hecho de limpiar correctamente una herida va a tener una relación directa con la optimización de las condiciones necesarias para que esta cicatrice correctamente y que

disminuya el peligro de infección, ya que con la limpieza, se retiran microorganismos y material necrótico presentes en el lecho de la lesión.

Una forma de valorar la evolución positiva de la herida, se establece midiendo su contorno, lo que nos da una medida del correcto funcionamiento de los procesos de cicatrización, que se traduce por un cierre continuado y en los plazos previstos ⁵⁷.

Varias instituciones valoran como fundamental la limpieza de las heridas como base de la evolución de las mismas, así la Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR) ⁵⁸, edita una Guía para el Tratamiento de heridas crónicas, en la que establece sobre la limpieza de las úlceras una serie de recomendaciones, adaptables y extensibles al resto de lesiones cutáneas, orientadas a reducir el trauma físico y químico que pueden representar las acciones de limpieza. A continuación se enumeran dichas recomendaciones.

- Limpiar las heridas al principio del tratamiento y durante cada cambio de apósito.

- Utilizar la mínima fuerza mecánica al limpiar las heridas con gasas o esponjas.

- No limpiar las heridas con productos limpiadores o agentes antisépticos, como por ejemplo: povidona yodada, yodoformas, soluciones de hipoclorito sódico, peróxido de hidrógeno y ácido acético.

- Utilizar solución salina isotónica para limpiar las heridas.

- Administrar el producto limpiador a una presión suficiente que no cause trauma en el lecho de la herida pero facilite el arrastre mecánico de los restos necróticos.

Es tal vez la más desconocida de estas recomendaciones, la que hace referencia a la no utilización de productos antisépticos, principalmente la povidona yodada, hipoclorito sódico, peróxido de hidrógeno y ácido acético, todos ellos de reconocida toxicidad y agresividad con los granulocitos, monocitos, fibroblastos y el tejido de granulación fundamentales todos ellos en el proceso de reparación de las heridas ^{59 - 66}.

Por su parte el Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión (GNEAUPP) ⁶⁷ hace algunas recomendaciones para la limpieza en las úlceras cutáneas, entre otras las siguientes:

- Limpie las lesiones inicialmente y en cada cura.
- Utilice como norma suero salino fisiológico.
- Use la mínima fuerza mecánica para la limpieza de la úlcera así como para su secado posterior. Use una presión de lavado efectivo para facilitar el arrastre de los detritus, bacterias y restos de curas anteriores pero, sin capacidad para producir traumatismos en el tejido sano.
- La presión de lavado más eficaz es la proporcionada por la gravedad o por ejemplo la que realizamos a través de una jeringa de 35 ml. con una aguja o catéter de 0,9 mm. que proyecta el suero fisiológico sobre la herida a una presión de 2 kg/cm². Las presiones de lavado de la úlcera efectivas y seguras oscilan entre 1 y 4 kg/cm².
- No limpie la herida con antisépticos locales (povidona iodada, clorhexidina, agua oxigenada, ácido

acético, solución de hipoclorito,...) o limpiadores cutáneos. Todos son productos químicos citotóxicos para el nuevo tejido y en algunos casos su uso continuado puede provocar problemas sistémicos por su absorción en el organismo ⁶⁷.

Ambas instituciones ^{59,67}, hacen especial hincapié en la utilización de líquidos, en este caso el suero fisiológico, para la limpieza de las heridas, aportando por un lado hidratación a la misma, en la línea de cura en ambiente húmedo propugnada, colaborando en la curación por cura húmeda y por otro minorando la colonización bacteriana por mecanismo de arrastre mecánico ²⁵.

En este sentido, podemos decir que la limpieza apropiada de la herida puede remover bacterias, detritos celulares, restos de otras curaciones y reducir el exceso de exudado ⁶⁸.

Por otra parte, algunos autores se han preguntado si otros líquidos se comportan de la misma manera en la limpieza de las heridas. En el estudio de Fernández et al., ⁶⁹ los autores pretendían comparar los efectos del agua con el suero salino y otras soluciones de limpieza

en el índice de curación y nivel de infección de las heridas agudas. Y entre los resultados destacan que la utilización de agua, agua destilada, agua hervida o suero fisiológico repercute positivamente en las heridas en tanto que disminuye la carga bacteriana que en ellas existe, elimina restos y cuerpos extraños, favoreciendo que el proceso de cicatrización pueda realizarse sin interferencias.

Por otra parte, al comparar los distintos tipos de soluciones utilizadas, refieren que no existen diferencias significativas a favor de un producto u otro para la limpieza de las heridas, excepto desde el punto de vista económico, por lo que los resultados de los ensayos clínicos revisados en este estudio, no parecen que sean concluyentes en determinar qué producto es más efectivo, si el agua o el suero fisiológico, y cual de ellos tiene mayor influencia en la ausencia de complicaciones e infecciones ^{69, 70}, resultados que refieren también otros autores ^{71, 72}.

Ni siquiera el uso de determinados antisépticos parece ser más eficaz que la limpieza con agua, en algunas lesiones, como las episiotomías.

Por lo que concluyen, que hay adecuada evidencia para recomendar la limpieza de las heridas agudas con agua del grifo, agua hervida, agua destilada o suero salino. Refiriendo que no existen datos que permitan recomendar como más eficaz en su utilización a ninguno de ellos sobre los otros, excepto por criterios económicos ⁷⁰.

Este aumento de costo, lo refieren otros autores al comparar los diferentes tratamientos que pueden implementarse en la curación de heridas, con lo que remarcan la importancia de elegir el producto idóneo y de menor valor al abordar el tratamiento ^{73 - 81}.

1.8.- Contaminación de las heridas

Todas las heridas crónicas contienen bacterias pero no es dicha presencia el único factor que interfiere en la cicatrización, sino el número de ellas y la interacción que tengan con el huésped. Existe un delicado equilibrio entre la resistencia del huésped y las distintas bacterias que determina la posibilidad de cicatrización de una herida ^{82 - 84}.

Según Dow et al,⁸⁵ hay diversos estados por los que transita una herida en relación con la presencia de gérmenes, comenzando por:

-*Esterilidad*: Estado ocasional en el que se puede encontrar una herida tras trauma térmico o durante la cirugía. Es la ausencia absoluta de gérmenes.

O por el contrario valorando la presencia de bacterias en el lecho de una herida pudiendo de este modo manifestarse en cuatro categorías:^{83,85,86}

-*Contaminación*: Presencia de microorganismos (aunque no se multiplican). La gran mayoría de las heridas están contaminadas. En este caso, las defensas del huésped son capaces de eliminar los intentos de replicación y no hay signos clínicos, la mayoría de las heridas están en este estado

-*Colonización*: Se produce multiplicación activa de microorganismos sin generar síntomas clínicos, no causan daño celular en el huésped por lo que no hay reacción del paciente (huésped), sino que funcionan como comensales sin alterar el proceso de cicatrización

-Colonización crítica: También denominada Infección local, es una fase de transición o de infección encubierta. Durante esta fase se presentan tenues síntomas de infección local, pudiendo aparecer también algunos signos y síntomas como son: retraso en la cicatrización, dolor, incremento del exudado seroso, cambios en el color del lecho y tejido de granulación friable.

-Infección sistémica: Tiene lugar cuando se rompe el equilibrio entre la resistencia del huésped y las bacterias presentes en la herida, instaurándose una fase de invasión bacteriana y deterioro tisular provocado por la interacción de un agente infeccioso y un huésped susceptible, en el que resulta crucial la virulencia del germen. En este caso se evidencian signos y síntomas de infección, como son eritema,

calor, edema, dolor, olor y supuración. Pudiendo cursar con fiebre, leucocitosis y/o neutrofilia ⁸⁵.

Entre los factores del huésped que favorecen la infección se encuentran entre otros: trastornos vasculares, diabetes, inmunodepresión, edema,

nutrición inadecuada, corticoides e inmunosupresores, radioterapia y abuso de alcohol ⁸⁶.

En el estudio de Cooper ⁸⁷ valorando úlceras venosas de la pierna que no avanzaban hacia la curación, realiza un análisis de la flora colonizada dentro de la herida para evaluar el estado microbiológico, descubriendo una media de 5,8 unidades formadoras de colonias por úlcera, opinando que esa colonización influye de manera decisiva en el retardo cicatricial de las heridas, reflejando también que las complejas interacciones entre los pacientes y las especies microbianas que viven en las heridas aún no están completamente caracterizados.

En estos casos está indicada la toma de muestra con hisopo, para evaluar a través del cultivo bacteriológico

la presencia de bacterias en el lecho de la herida, que va a permitir diferenciar entre colonización e infección de la herida, haciendo un recuento del número de bacterias por gramo de tejido.

Un recuento superior a 100.000 colonias indicaría infección ⁸⁸.

Por otro lado, y no menos importante es tener en cuenta que el desarrollo y el tratamiento de infecciones de la herida quirúrgica ha sido siempre un factor limitante para el éxito del tratamiento quirúrgico.

A pesar de las continuas mejoras que se han hecho, las infecciones de las heridas se siguen produciendo en un alto porcentaje, a un ritmo inaceptable, como apunta Alexander JW ⁸⁹, cada año cuesta miles de millones en pérdidas económicas causadas por la morbilidad y mortalidad asociadas.

Y propone utilizar las guías o directrices para la prevención de infecciones, como por ejemplo las del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) ya que pueden reducir las infecciones de la herida de manera significativa ⁸⁹.

1.9.- Complicaciones en la resolución de heridas

Algunos factores pueden afectar el proceso de reparación tisular, pudiéndolos dividir en locales y sistémicos.

Uno de los factores locales que influyen en la calidad de la cicatrización corresponde a la naturaleza de la piel lesionada teniendo repercusión en el desarrollo de la misma. Así, la piel tensa y sin arrugas de un niño actúa bien para ocultar cicatrices. Caso aparte es lo que acontece con la piel del anciano de tersura floja y arrugada en comparación con la de los niños y donde es más improbable que se presente hipertrofia ⁹⁰.

Por otro lado, si la herida atraviesa las líneas naturales de tensión, es más probable que aparezca hipertrofia de la cicatriz.

Según Lodovici ⁹¹, Rubbin en 1948 consideró las líneas de tensión de la piel como consecuencia de la actividad de los músculos subyacentes y en 1951, Kraissl las identificó como arrugas naturales. Estas líneas se

disponen de forma perpendicular a la dirección de la contracción muscular. Las heridas cuando se producen en el sentido de las líneas de tensión de la piel, están en situación de mayor reposo, desarrollándose su cicatrización en las mejores condiciones posibles ⁹².

La localización de la herida y su situación anatómica también influye en la calidad de la cicatrización. Así, las heridas del cuero cabelludo se contraen muy poco en comparación con las situadas cerca de las comisuras de los labios ^{93, 94}.

Otro de los factores que son necesarios para la buena evolución del cierre de las heridas ⁹⁵ es la presencia en cantidades precisas de algunos componentes que van a colaborar a la resolución de forma idónea de las heridas, como la serotonina que participa en que se produzca un buen resultado del equilibrio entre la vasodilatación y la vasoconstricción de los vasos que están contribuyendo a una evolución positiva de la cicatrización de la lesión.

Los neurotransmisores como la adrenalina, noradrenalina y acetilcolina que son liberados en las paredes vasculares van a producir modificaciones que facilitan la adherencia de plaquetas y leucocitos a la superficie vascular.

Son también importantes ⁹⁶ las concentraciones de prostaglandinas que median la migración celular durante las fases iniciales de la inflamación.

Otro aspecto a considerar para facilitar una correcta reparación, lo constituye el evitar la formación de hematomas asegurando una coagulación adecuada, pudiendo implementar medidas como la conveniencia de evitar la ingesta de antiinflamatorios, salicilatos, etc., corregir trastornos hemorrágicos como la hemofilia o las deficiencias de plaquetas o fibrinógeno, disponer sistemas de drenaje en la herida, etc.

También se puede favorecer la coagulación mediante el uso de apósitos compresivos si el riego sanguíneo de la lesión lo tolera. Si estos métodos fracasaran ^{97, 98}, se puede optar por taponar la herida hasta que exista

hemostasia y diferir 48 a 72 horas el cierre definitivo de la herida.

La infección de la herida constituye uno de los principales problemas que induce una cicatrización deficiente. El desarrollo de una infección en una herida depende de la patogenia, de la virulencia del microorganismo invasor y de la inmunocompetencia del huésped.⁸⁹

Los pacientes con mayor riesgo de desarrollar infecciones de las heridas son aquellos cuyas respuestas inmunitarias distan de ser óptimas⁹⁹, por lo que hay que extremar la prevención ante la posibilidad de que surja la misma, como por ejemplo tomando medidas para evitar la presencia de hematomas, cuerpos extraños, corrección de estados deficitarios nutricionales, metabólicos, etc..

Considerado usualmente que toda herida accidental debe tratarse como contaminada, y que las heridas quirúrgicas pasado un cierto tiempo (de 6 a 8 horas) también, utilizando la regla estricta de no cerrarla ni suturarla. En la actualidad, los plazos y el tratamiento son más elásticos, debido a la posibilidad de utilización

de medidas ¹⁰⁰ como una buena limpieza quirúrgica y desinfección de la herida.

En heridas que presentan signos evidentes de infección no se recomienda el cierre de la misma, porque pueden coleccionarse los productos de desecho de la fagocitosis y producirse abscesos, siendo en este caso la mejor opción dejarla abierta hasta que cedan los signos infecciosos y efectuar, el cierre de la herida posteriormente, denominándose en este caso el cierre por tercera intención.

En cuanto a los factores sistémicos, algunos de ellos ¹⁰¹ van a intervenir mejorando o enlenteciendo el desarrollo de la cicatrización de las heridas como los siguientes:

Edad del paciente. En los niños, las heridas tienden a cicatrizar más rápido que en pacientes ancianos por la ventaja de una mejor irrigación vascular y existe menos patología sistémica, por el contrario, parece existir una disminución de las posibilidades reparativas en pacientes de edades avanzadas, relacionándolas con un menor riesgo sanguíneo y la

menor capacidad fibroblástica ⁹⁰. Igualmente suelen padecer mayor acumulación de afecciones que interfieren el proceso curativo, como la diabetes, la arteriosclerosis, la hipoproteinemia y la hipovitaminosis C, que reducen la microcirculación, el oxígeno circulante y facilitan la infección que hace fracasar la reparación.

En relación a *la desnutrición e hipoproteinemia*, un estado de desnutrición grave, la hipoproteinemia e hipoalbuminemia en los pacientes, retrasa el proceso reparativo de la herida, alargándose la fase de acumulación de materiales.

Enfermedades asociadas. La obesidad, la desnutrición, la edad avanzada (más de 60 años), la isquemia, la vasculopatía periférica, el cáncer, la insuficiencia orgánica, la sepsis e incluso las limitaciones de la movilidad afectan a la cicatrización. La diabetes mellitus altera la cicatrización de las heridas en alrededor de un 10% de los pacientes ¹⁰², debido a que altera la función de los leucocitos y reduce la proliferación de fibroblastos y el depósito de colágena.

Por tanto, un elemento fundamental del tratamiento de las heridas consiste en corregir en la medida de lo posible las enfermedades subyacentes y concomitantes.

Si la enfermedad subyacente no puede corregirse o es difícil de controlar ¹⁰³, es posible que la cicatrización de la herida se demore.

Administración de fármacos (hormonas). Cualquier fármaco que interfiera las vías que conducen a la reacción inflamatoria que termina en la producción de colágeno, puede afectar a la curación de la herida. Entre otras ¹⁰⁴, cabe citar la administración de antiinflamatorios (esteroides o no), los anticoagulantes y las sustancias citotóxicas empleadas en el tratamiento de pacientes neoplásicos. Inhiben la inflamación, neoangiogénesis y producción de colágeno.

La respuesta inmunoinflamatoria, repercute de manera negativa en la cicatrización y aumenta el riesgo de infección de la herida ¹⁰⁵.

El proceso inflamatorio es una parte esencial de la cicatrización de la herida aguda, y se sabe que su alteración constituye una de las causas principales de la cronificación de las heridas ^{99, 106, 107}.

Estados carenciales de vitaminas A, C, E y K. En pacientes con hipovitaminosis C la probabilidad de que se produzca una dehiscencia en una herida, por fallo en la síntesis de colágeno, es 8 veces mayor que en un individuo normal, la vitamina A estimula la epitelización, la vitamina E se ha recomendado como estabilizadora de las cicatrices, la vitamina K es necesaria en la síntesis de factores de coagulación ^{108 - 111}.

Esencial también resulta *la vascularización*: La correcta oxigenación y perfusión tisular son necesarias para el mantenimiento de la integridad y el éxito en la reparación tisular ⁴¹.

En síntesis, una gran variedad de factores, tanto intrínsecos como extrínsecos, pueden influir en la cicatrización de las heridas. Algunas de estas influencias ambientales pueden ser objeto de

manipulación para lograr una cicatrización más rápida. En este sentido, todos los factores que influyen de una u otra manera, muchas veces no pueden ser eliminados, pero dada la repercusión que tienen en el normal desarrollo del proceso cicatricial de reparación de heridas, deben ser controlados para reducir la posibilidad de interferencia con el mismo ³⁰.

2

Justificación y Objetivos

2.-JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1. Justificación

Con la finalidad de determinar la implicación de los productos de limpieza de heridas en la evolución de las lesiones cutáneas, nos planteamos la presente tesis doctoral. Teniendo en cuenta que los cuidados que se brindan a los pacientes portadores de heridas cutáneas, abarcan un amplio abanico de posibilidades que van desde la limpieza de la misma, con la utilización de diferentes productos clínicos, la utilización de otros productos como cremas, pomadas, etc., que combinadas con la utilización y el manejo de

diferentes apósitos, van a facilitar entre otras cosas los procesos de cicatrización precisos para la reparación de la forma más adecuada de los defectos de cobertura cutánea que presentan dichos pacientes ^{112, 113}.

Según Soldevilla ¹¹³, para un correcto tratamiento de las lesiones cutáneas, es preciso el riguroso cumplimiento de las medidas de limpieza, desbridamiento, desinfección, junto a la selección del apósito apropiado.

Por otra parte, según refiere Alexandre ⁵², de todos los procesos que se instauran en el tratamiento para la resolución de las heridas, la limpieza y el lavado son fundamentales, ni una técnica adecuada de sutura ni la utilización de profilaxis antibiótica, puede sustituir a la limpieza y el lavado meticuloso.

Sin embargo, la utilización de productos para esta limpieza y lavado, presenta un espectro de posibilidades de utilización no bien definido en los protocolos clínicos ^{114 - 116}.

La limpieza de las heridas, pretende reducir por el

proceso de arrastre mecánico su contenido de restos o detritus, pero por otra parte, también disminuir la colonización bacteriana, amén de aportar hidratación e iones en función de la fórmula utilizada.

Debido a esta utilización, no bien protocolizada y muchas veces de forma rutinaria de los procedimientos de limpieza en todos los procesos de curas de heridas¹¹⁷, es preciso revisar las directrices generales sobre la limpieza de heridas que incluyen como recomendaciones las principales asociaciones profesionales.

Así encontramos que el Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión (GNEAUPP), hace las siguientes recomendaciones de limpieza en las úlceras cutáneas:^{67,118} “Limpie las lesiones inicialmente y en cada cura. Utilice como norma suero salino fisiológico”.

Por otra parte, una revisión sistemática sobre la eficacia de las soluciones para limpieza de las heridas,^{119,120} concluyó que el agua potable del grifo era una solución eficaz para la limpieza de heridas lacerantes o postoperatorias en adultos, si bien apuntan que esta

afirmación estaba basada en un pequeño ensayo y es precisa una mayor investigación que lo confirme y concluyen que en ausencia de solución salina normal o de agua de grifo potable, se puede utilizar como un eficaz agente limpiador de heridas el agua hervida y enfriada.¹¹⁹

A este análisis del proceso de limpieza, hay que añadir el criterio económico, circunstancia que está muy de actualidad en estos momentos, ya que todo el proceso se ve reforzado por la variabilidad del costo en función de la utilización de diferentes productos, como apunta Soldevilla en una valoración reciente, sobre la repercusión económica de las úlceras por presión.¹²¹

Por otra parte Bennett¹²², en su estudio para estimar el costo del tratamiento por episodio de atención y por paciente para las heridas de diferentes grados y nivel de complicaciones en el Reino Unido, obtiene unos resultados que indican un aumento del costo a mayor gravedad de la herida y a mayor número de complicaciones, teniendo en cuenta el arsenal terapéutico utilizado y el tiempo de profesional dedicado a su cuidado.

Dentro de ese arsenal terapéutico por supuesto se encuentran los productos de limpieza que son utilizados cada vez que se realiza la cura de las heridas.

La investigación clínica sobre los productos utilizados para la prevención y tratamiento de las heridas es muy escasa a pesar de que la utilización de uno u otro producto conlleva un gasto diferente, cuyo control en la actualidad se está teniendo muy en cuenta por parte de las administraciones sanitarias por el gasto que se genera ¹¹³.

La selección de estos productos para la presente tesis, se realiza revisando la bibliografía existente relacionada con la limpieza de heridas y con la cicatrización ^{123 - 126}.

Atendiendo a los criterios expuestos, nos planteamos averiguar si alguno o varios de estos productos tiene influencia en: el cierre de las lesiones cutáneas, la alteración de la flora bacteriana en las heridas y en la calidad de la regeneración tisular de las mismas.

A tal fin, esta tesis, se basa en la realización de un estudio experimental con animales de laboratorio a los que se realiza una herida cutánea de tipo ulcerativa, en la que se aplicarán diversos productos clínicos de limpieza de heridas, (agua destilada, suero fisiológico, suero glucosado y agua oxigenada) con la finalidad expuesta.

Para ello, procederemos a evaluar la evolución cicatricial mediante el estudio ulcerométrico de cierre de la úlcera. También analizaremos el efecto microbiológico que dichos productos ejercen sobre la variación de la flora microbiana presente o desarrollada en dichas lesiones. Así mismo, evaluaremos la “calidad” de ese cierre, mediante estudio histológico de las piezas cutáneas.

Los resultados que esperamos obtener de esta tesis nos permitirán identificar aquel producto más idóneo para el problema relatado y que pueda ser aplicado con eficacia clínica en la resolución de las heridas y úlceras de los pacientes.

2.2. Objetivos

Nos planteamos los siguientes objetivos:

1. Aplicación experimental en el animal de laboratorio de los diferentes productos de limpieza de heridas utilizados en la clínica para el abordaje de lesiones cutáneas.
2. Estudio estadístico de la evolución de cierre cicatricial de las lesiones cutáneas.
3. Estudio microbiológico de variación de la flora bacteriana habitual en las lesiones, según los diferentes productos utilizados.
4. Estudio cicatricial histológico de las piezas cutáneas tratadas con los diferentes productos de limpieza.

3

Material y Metodología

3.-MATERIAL Y METODOLOGÍA

Se realiza un estudio experimental para comprobar la influencia cicatricial de diversos productos de limpieza de heridas en el animal de laboratorio.

Se pretende evaluar la relación existente entre diferentes productos de limpieza de heridas utilizados en la clínica con la influencia sobre la evolución cicatricial de los mismos, planteando tres fases, a saber:

- a) Ulcerometría planimétrica; con medición diaria de la superficie de las heridas

- b) Histológica; con valoración microscópica de las piezas cutáneas
- c) Microbiológica; evolución de la población de bacterias mesófilas, expresado en número de unidades formadoras de colonias (UFC) en las muestras tomadas.

3.1. Condiciones de trabajo

Para este estudio experimental, se ha utilizado como animal de laboratorio la rata blanca, cepa Sprague Dawley adulta.

Los animales fueron mantenidos en condiciones estándar de laboratorio con un ciclo luz - oscuridad 12:12, con comida y bebida *ad libitum* durante todo el experimento. La temperatura ambiental se mantiene entre 20-22°C.

Se procedió a anestesiarlos individualmente en cámara de metacrilato transparente, con atmósfera de éter y, a

continuación, previa extracción del pelo con tijera, se les practica una herida cutánea de piel total en la región del dorso, con un *punch* quirúrgico desechable de 8 mm. de diámetro lo que nos proporciona una herida estándar con una superficie ($\pi \times r^2$) de 50.26 mm².

Tras la realización de las heridas cutáneas eran colocadas en jaulas individuales para evitar que se lamieran entre ellas y con altura suficiente para impedir el roce de la herida con las mismas.

Se realiza cada día la limpieza de las heridas, utilizando para cada grupo un producto de limpieza diferente.

Para hacer este lavado, se han valorado las guías de práctica clínica aportadas por el GNEAUPP ^{67, 68}, cuando recomienda un sistema de lavado apoyado en la presión de arrastre para eliminar detritus o bacterias, pero teniendo en cuenta que, en este caso, no nos interesa eliminar la flora bacteriana por métodos de arrastre, sino valorar la variación de esa flora en función de los diferentes productos utilizados,

nos decantamos por un sistema de pulverización del producto para que el lavado, no sea una variable que afecte a la minoración de la flora.

Así, cada producto, se introduce en un recipiente con un sistema de pulverización que se aplica a cada grupo de animales, presionando cuatro veces en cada ocasión para igualar la cantidad de producto depositado en la superficie de la herida en cada ocasión.

Se aplica cada uno de ellos a un grupo distinto de animales, a los que hay que añadir el grupo control, al que no se le aplica ningún producto, por tanto tenemos cuatro productos y un grupo al que no se le realiza limpieza, contabilizando en total 5 grupos y cuatro productos, siendo los siguientes:

- 1.- Grupo Control
- 2.- Grupo Agua Destilada
- 3.- Grupo Suero Fisiológico
- 4.- Grupo Suero Glucosado
- 5.- Grupo Agua Oxigenada

3.2. Ulcerometría Planimétrica

Se trata de valorar el cierre de las heridas producidas, mediante medición de las superficies de las mismas cada día, hasta que se produce la reparación y cierre cutáneo.

Para esta fase, se establecieron 5 grupos en el que se incluyen a 10 animales, distribuidos en 5 hembras y 5 machos, en cada uno de ellos resultando un total de 50 animales.

A cada animal se le realiza una medición del contorno de la herida cada día. Teniendo en cuenta que los días necesarios para el cierre de las heridas es de unos 20 y a cada animal se le realiza una medición diaria, resultan un total aproximado de 1.000 mediciones.

Para proceder a la medición de las mismas, después de revisar la bibliografía buscando un método sencillo y fiable, encontramos algunos que cumplen estos parámetros.

Por un lado Chang ¹²⁷, realiza un estudio con las áreas de 40 heridas para valorar dos métodos de medición, uno de ellos fotográfico, con cálculo del área de la herida a través de un *software* y por otra parte utilizando un método de reborde de la imagen de la herida en una película transparente de 2 capas (método Visitrak), con el que calcula el área de la herida, trasladando la imagen del contorno a través de un *software* (ImageJ®) de ordenador. Concluyendo que no hay diferencias estadísticamente significativas en la medición del área de la herida entre los dos métodos.

Otros autores, como en el estudio de Jiménez *et al* ⁷¹, establecen una comparación entre la medición externa del alto y ancho de la herida a la que aplican un factor de corrección para hallar la superficie y la utilización de un ulcerómetro® ⁵⁷ que consta de 2 capas, una película transparente de acetato y un papel milimetrado, que permite al posicionarlo sobre la herida rebordear su contorno y medir su superficie, retirando el papel al terminar de reflejar el contorno de la herida, quedando la imagen rebordeada en el acetato, lo que permite su medición posterior,

quedando el contorno de la imagen para valorar su evolución, no entrando este material en contacto directamente con la herida al hacer las mediciones, y en este caso al igual que en el estudio anterior, no encontrando diferencias significativas entre uno y otro método.

Por lo que nos decantamos para realizar la medición de la evolución del contorno de las úlceras cutáneas, por la utilización del modelo de utilidad patentado “ulcerómetro® de Jiménez y Chacón” ⁵⁷, que nos permite obtener una imagen de la superficie de la herida, que permanece en el soporte de acetato para su posterior medición de las variaciones diarias de la extensión de las lesiones ulcerativas quedando además una prueba gráfica de la evolución de la misma.

Para estudiar si se producían diferencias significativas respecto al cierre evolutivo de la superficie de las úlceras cutáneas, durante el tiempo de evolución cicatricial de las lesiones entre los diez grupos de animales, teniendo en cuenta el sexo y los cuatro tratamientos considerados más el grupo control, se

utilizó el modelo de medidas repetidas con efectos mixtos, considerando los dos factores de variación (tipo de tratamiento asignado y sexo del animal) como variables independientes y como variable respuesta o dependiente, la superficie de las úlceras cutáneas. Dada las características de los datos fue necesario procesar el análisis estadístico de los mismos con el *software* libre R (versión R-2.11.1). En este caso se pretende contrastar si cada uno de los factores (tratamiento, sexo) afectaba a la variable respuesta (superficie de las úlceras cutáneas) por separado y si la interacción entre ambos modifica dicho efecto. Se tomó como nivel de significación $\alpha \leq 0.05$ ^{128, 129}.

3.3. Histología

En este caso, se pretende evaluar la “calidad” de la cicatrización de la herida, mediante la valoración de la pieza histológica teniendo en cuenta en este caso, no el tamaño de cierre de superficie de la úlcera, sino los elementos celulares que entran a formar parte de la cicatrización de la misma

Para esta parte del estudio, se obtuvieron piezas de piel total, con margen de seguridad, de las lesiones cutáneas producidas previamente, a las 72 horas, una semana y dos semanas del inicio del experimento. Se utilizaron 20 animales, dos animales por cada grupo, uno de cada sexo para realizar las tres tomas de muestra referenciadas, en la última a las dos semanas, se toman de los dos últimos animales (de cada grupo) utilizados para la planimetría.

Por lo tanto, si a estos primeros 20 les añadimos estos otros 10, resultan un total de 30 animales, a los cuales se realiza la toma de muestras para Histología.

Las piezas se fijaron en formaldehído al 10% y fueron incluidas en un bloque de parafina. Para su valoración microscópica, fueron cortadas con microtomo en muestras micrométricas de 5 μ , para la coloración se utiliza la tinción de hematoxilina-eosina.

El estudio histológico fue realizado sistemáticamente en todos los grupos de acuerdo con los hallazgos referidos a la herida como: aproximación de los

márgenes de reepitelización (grado de cierre), naturaleza del tejido de granulación, amplitud y disposición de los capilares, actividad de los fibroblastos, miofibroblastos y pericitos (grado de epitelización), costra de la herida y grosor del cierre.

3.4. Microbiología

En este apartado de la metodología, se analiza la variación de la microbiota bacteriana aerobia desde el inicio de la herida hasta su cicatrización. El método utilizado ha sido el de recuento de células bacterianas viables, con el objetivo de determinar las unidades formadoras de colonias (UFC) de cada herida por el método de recuento en placa. Con este procedimiento se trata de determinar el tamaño de la población bacteriana en cada muestra.

El recuento de bacterias se basa en que cada una de ellas desarrollará una colonia visible cuando se siembran en un medio de cultivo sólido. Esta colonia se considerará UFC a los efectos de cálculos.

Material utilizado:

- Hisopos estériles con punta de algodón.
- Solución fisiológica estéril
- Tubos estériles de 10 ml.
- Agitador o mezclador tipo Vortex
- Pipetas estériles
- Asas de siembra tipo Digrafski estériles
- Medio de cultivo sólido: *Tryptic Soy Agar* (TSA)
- Estufa con temperatura de 37°C
- Rotuladores indelebles
- Lupa

Para llevarlo a cabo, se procedió a pasar un hisopo de algodón estéril por la superficie de la herida, presionando y rotándolo suavemente durante 10 segundos.

Como primer paso o paso control, se procedió a realizar el mismo procedimiento; pero en este caso sobre una superficie de extensión similar a la zona de herida efectuada a los animales sujetos a estudio, antes del procedimiento quirúrgico; para ser utilizado como control de la microbiota bacteriana que presentan en situaciones normales. Posteriormente se

realiza la toma de muestras en las superficies ulcerativas de los animales del experimento, a los 3, 7, 10 y 14 días de inicio de la cirugía.

Una vez regogada la muestra, e inmediatamente, se introduce el hisopo en un medio de transporte para su mantenimiento hasta la llegada al laboratorio. Para realizar la técnica, se introduce el hisopo en un tubo conteniendo 1 ml de solución fisiológica estéril y se aplica vortex durante 30 segundos. Pasado este tiempo, se procede a realizar diluciones seriadas al décimo de las muestras a titular. (gráfico 1):

- Dilución 1: 0.1 ml de la suspensión bacteriana + 0.9 ml de suero fisiológico [Dilución 1/10].
- Dilución 2: 0.1 ml de la dilución 1/10 + 0.9 ml de suero fisiológico estéril [Dilución 1/100].
- Dilución 3: 0.1 ml de la dilución 1/100 + 0.9 ml de suero fisiológico estéril [Dilución 1/10³].

- Dilución 4: 0.1 ml de la dilución $1/10^3$ + 0.9 ml de suero fisiológico estéril [Dilución $1/10^4$].
- Dilución 5: 0.1 ml de la dilución $1/10^4$ + 0.9 ml de suero fisiológico estéril [Dilución $1/10^5$].
- Dilución 6: 0.1 ml de la dilución $1/10^5$ + 0.9 ml de suero fisiológico estéril [Dilución $1/10^6$].

Se rotulan 5 placas de TSA (una para cada dilución) y se añaden 0.1 ml. (con pipeta nueva en cada una) de cada dilución, y se extienden por la superficie de la placa con ayuda del asa de siembra. Se incuban las placas a 37°C durante 24 horas y se procede al recuento de colonias. Para ello, se escogen las placas que muestran entre 30 y 300 colonias. Se cuentan las colonias y se expresa el resultado obtenido en UFC utilizando la siguiente fórmula:

UFC = Número de colonias (entre 30 y 300) x inverso de la dilución x 10

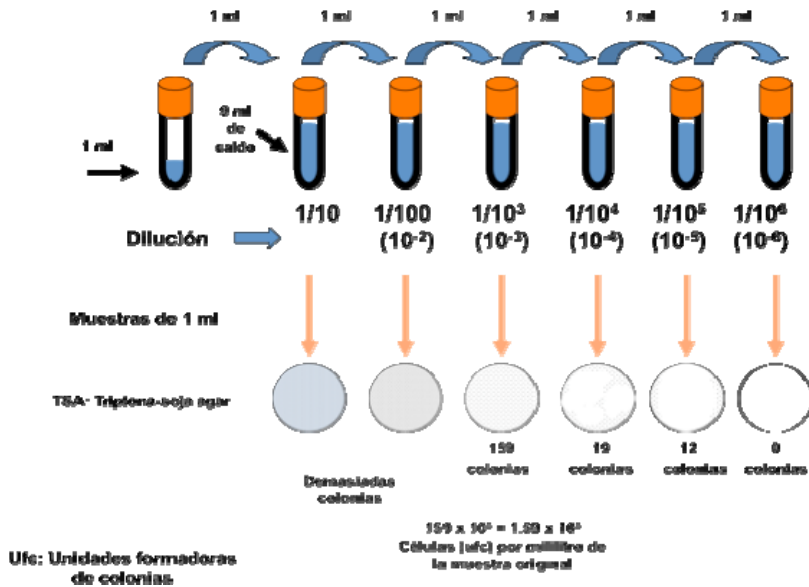


Gráfico 1. Esquema del proceso

Las siguientes tomas de muestras se realizan a los 3, 7, 10 y 14 días, sumando un total de 5 tomas de muestras distintas, resultando por tanto un total de 250 muestras, se utilizan para esta toma de muestra los mismos 50 animales de la ulcerometría.

Con los datos obtenidos de las muestras recogidas, se procede a comprobar si existen diferencias significativas respecto al nivel de flora bacteriana a lo largo del cierre evolutivo de la superficie de las úlceras

cutáneas entre los 10 grupos de animales, teniendo en cuenta el sexo y los cinco tratamientos considerados, durante el tiempo de evolución cicatricial de las lesiones.

Para valorar la posible asociación entre la evolución de la flora bacteriana (variable respuesta), a lo largo de los cinco momentos de observación, considerando los dos factores de variación (tipo de tratamiento administrado y sexo del animal), se ha utilizado en el análisis estadístico de los datos el modelo utilizado por Ximenez ¹³⁰, de análisis de la varianza con medidas repetidas incluido en el *software* estadístico SPSS.

Los modelos de ANOVA de dos factores permiten determinar no sólo si cada uno de los factores (tratamiento y sexo) afecta a la variable dependiente (flora bacteriana) por separado, sino además si la interacción entre ambos modifica dicho efecto. Se tomó como nivel de significación $\alpha \leq 0.05$ ¹³¹.

En todas las fases del desarrollo de la presente tesis doctoral, se han respetado y cumplido todos los

requisitos exigidos a trabajos de investigación con animales de laboratorio (normativa europea, española y canaria).

De la Comunidad Europea, la Directiva 2010/63/UE¹³², publicada el 20 de octubre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. Con ella queda derogada la que, desde el año 1986 y hasta ahora, ha servido de base normativa en este área (Directiva 86/609/CEE).

Del Estado español, la Ley 32/2007¹³³, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.

Y de la Comunidad Autónoma Canaria, se ha tenido en cuenta el Decreto 117/1995¹³⁴, de 11 de mayo, por el que se aprueba el Reglamento de la Ley 8/1991, de 30 de abril, de Protección de los Animales y se desarrollan otros aspectos relacionados con los mismos (BOC 062; 19-05-1995).

Por otra parte, se ha solicitado y obtenido el permiso para la realización del experimento del Comité de Ética de Experimentación Animal de la Universidad de Las

Palmas de Gran Canaria, que se creó con los objetivos de protección del bienestar de los animales de experimentación, el respeto de los principios y compromisos bioéticos asumidos por la comunidad científica y para obtener resultados experimentales fiables y de alta calidad. Comité a quién se realizó la petición, describiendo los puntos principales del experimento y obteniendo respuesta positiva en oficio firmado por su presidente.

Así mismo, al final de cada tipo de análisis efectuado (planimétrico, microbiológico e histológico) y dada la inocuidad de los productos clínicos aplicados, se han mantenido a los animales vivos en el estabulario, siendo el personal técnico del mismo el que le ha asignado su destino correspondiente en la cadena biológica.



Resultados

4.-RESULTADOS: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.1. Ulcerometría Planimétrica.

Se presentan los datos relativos al cierre evolutivo de la superficie de las úlceras cutáneas, durante el tiempo de evolución cicatricial de las lesiones, entre los diez grupos de animales, teniendo en cuenta el sexo y los cuatro tratamientos considerados, así como el grupo que sirvió de control en el presente estudio.

Como se comentó en la parte metodológica, dada la agrupación de los datos, se realiza el análisis estadístico de los mismos con el *software* libre R (versión R-2.11.1). Contrastando cada uno de los factores (tratamiento, sexo) con su afectación a la

variable respuesta (superficie de las úlceras cutáneas) por separado y si la interacción entre ambos modifica dicho efecto. Se toma como nivel de significación $\alpha \leq 0.05$.

Resultados Estadísticos

De los 50 animales iniciales, tres se quedan fuera de esta parte del estudio, ya que el animal numerado con el n° 47 falleció el cuarto día de observación, así como los animales n° 28 y n° 32 por tener unas superficies iniciales muy superiores al resto, sin embargo si se utilizan para las otras dos tomas de muestra de que consta este estudio, a saber Microbiología e Histología. Resultando un total de $n = 47 \times 20 = 940$ mediciones.

En la Figura 1 se muestran en gráfico las nubes de puntos, de la superficie de la úlcera frente al número de días transcurridos hasta el cierre total de la herida, de cada una de los 47 animales considerados en esta parte del estudio, superpuesta en cada nube de puntos aparece una línea de ajuste obtenida mediante regresión polinómico local.

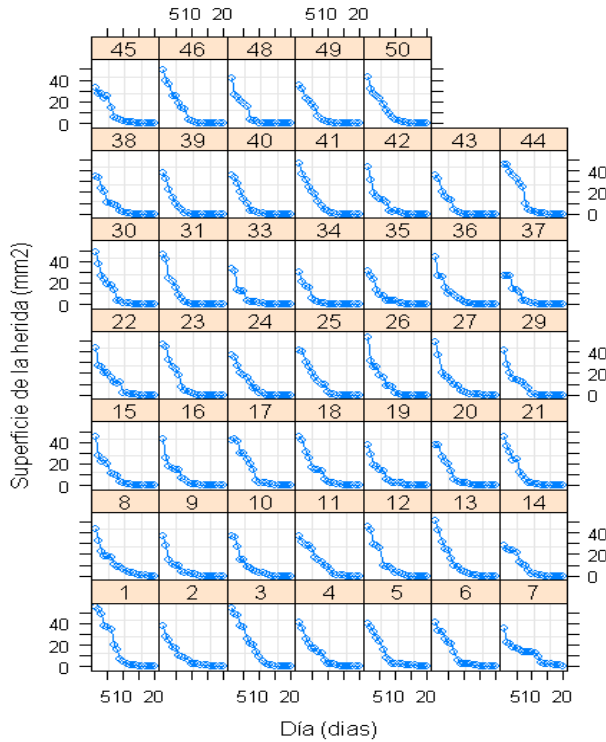


Figura 1

A la vista del resultado obtenido proponemos un modelo matemático de la dinámica de cicatrización de la herida, es decir, una expresión matemática que permita describir el cambio de tamaño de la herida, o superficie de la misma, con respecto al tiempo. Teniendo en cuenta el trabajo desarrollado por Cukjati *et al*,¹²⁹ que describe varios modelos matemáticos de posibles funciones que se pueden ajustar al cierre de

heridas, planteamos el siguiente modelo con tres parámetros que describimos a continuación:

$$S(d) = S_0 \cdot \frac{\left[\frac{1}{3} - \frac{d - d_{75}}{d_{75}} e^{\theta d_{75}} \right]}{\frac{1}{3} + e^{-\theta(d - d_{75})}} = f(d; d_{75}, \theta, S_0)$$

Consideramos de este modo un modelo global no lineal para la superficie de la úlcera cutánea que queda por cerrar ($S(d)$) que depende del número de días (d) transcurridos hasta el cierre total de la herida, siendo los parámetros S_0 = “Superficie inicial de la herida”, d_{75} = “día en que la superficie de la herida ha cerrado un 75% de la superficie inicial”, en cuanto al parámetro θ sabemos que la función dada tiene como valor el de la pendiente en el día en el que la superficie de la herida se ha cerrado un 75% de la superficie inicial:

$$S'(d_{75}) = \frac{3 \cdot S_0}{16} \cdot \left[\theta - 4 \cdot \frac{e^{\theta d_{75}}}{d_{75}} \right]$$

lo que nos lleva a considerar θ como un elemento que permite valorar la velocidad de cierre de la herida en d_{75} .

La ventaja de utilizar un modelo no lineal generalmente es porque se usa un menor número de parámetros respecto a un modelo polinómico lo que permite obtener una descripción de los datos más parsimoniosa es decir con menos dispersión. Asimismo, los modelos no lineales también proporcionan predicciones más fiables para la variable respuesta fuera del rango observado de los datos de lo que lo harían los modelos polinomiales.

En la Tabla 1 se muestra la salida de resultados obtenida con el software R mediante el procedimiento de mínimos cuadrados no lineal (nls: nonlinear least squares) en la que figuran los valores estimados de los parámetros, que resultan altamente significativos (p-value = $2e-16 < 0.001$), para el modelo considerado:

$$S(d) = f(d; d75, \theta, S0) + \varepsilon \text{ con } \varepsilon \sim N(0, \sigma) \quad (\diamond)$$

Modelo de mínimos cuadrados no lineal				
Parameter	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
S0	48.51708	0.59042	81.17	<2e-16 ***
d75	6.32471	0.09167	69.00	<2e-16 ***
θ	-0.23047	0.01848	-12.47	<2e-16 ***
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1				
$\hat{\sigma} = 4.044$ on 937 degrees of freedom				

Tabla 1

El resultado obtenido permite confirmar la validez del modelo propuesto ($\diamond$) de la dinámica de cicatrización de la herida y que utilizaremos para desarrollar el resto del estudio estadístico de la planimetría de cierre de las heridas, con objeto de analizar si los factores tipo de tratamiento administrado y sexo del animal, o la interacción entre ambos, afectan significativamente a la variable respuesta, y por tanto, a la estimación de los parámetros considerados.

En la Figura 2 se representa conjuntamente la nube de puntos de la superficie de la herida de los 47 animales a lo largo de los 20 días de observación y la función

estimada del modelo global no lineal. Siendo el error estándar de los residuos $\hat{\sigma} = 4.044$ con $n-3 = 937$ grados de libertad (Tabla 1).

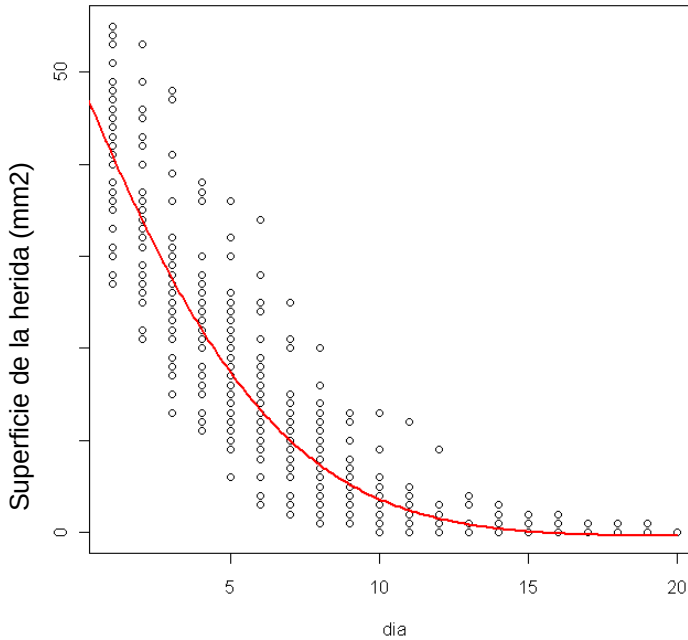


Figura 2

Asimismo, la Figura 3 muestra los gráficos de cajas, donde se encuentra el 50 % del total de los datos y bigotes de los residuos por sujeto (distancia entre valor de superficie observado para cada animal y valor estimado de superficie según modelo global no lineal

(♦)) que permite apreciar la variabilidad debida al animal.

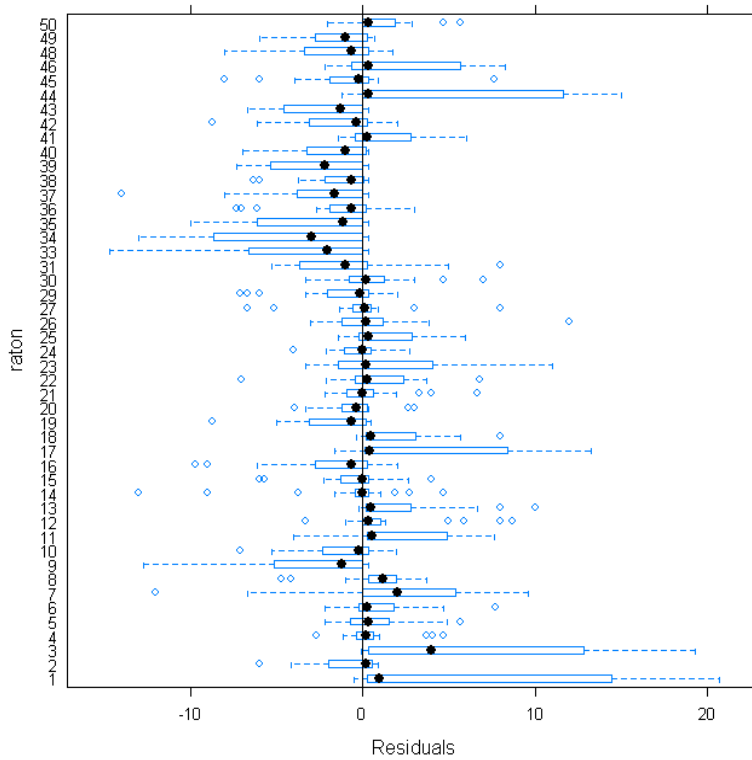


Figura 3

En la Figura 4, Se muestran los Intervalos de confianza al 95% de los tres parámetros considerados para cada uno de los 47 animales de la muestra.

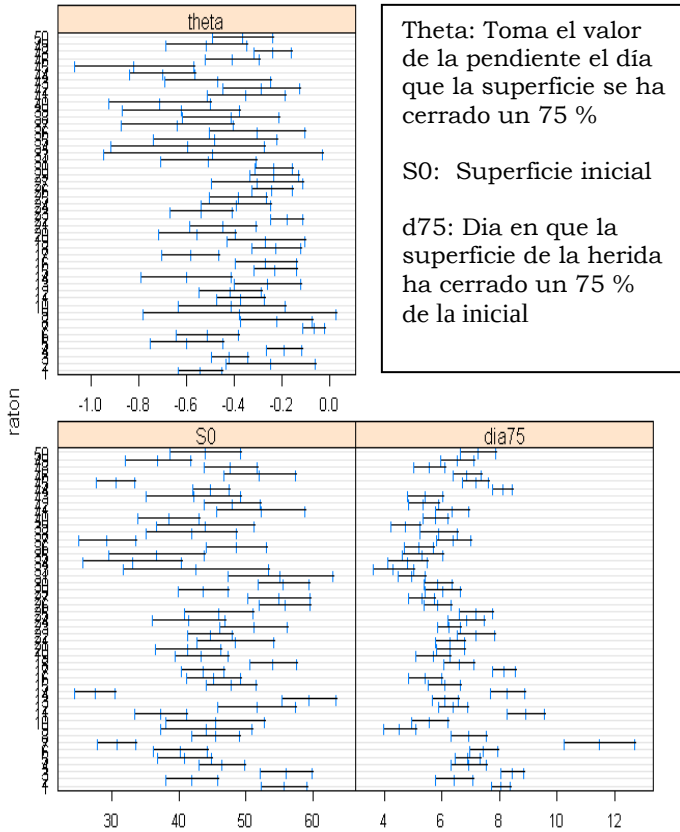


Figura 4

La construcción de un modelo no lineal ($\diamond$) para cada animal supone la estimación de 150 parámetros (θ , S_0 y $d75$ para cada animal) . De este modo se pierde objetividad del problema que es determinar si hay un efecto significativo de los factores sobre la variable respuesta.

El elevado número de parámetros que se genera al estimar un modelo para cada animal dificulta valorar en qué medida afecta a la variable respuesta la variación de los factores considerados, ello motiva la construcción de un modelo global que minimice el número de parámetros, así como la varianza residual.

Para ello, consideramos en este caso un modelo de efectos mixtos no lineal, teniendo en cuenta que queremos analizar en qué medida afecta a la variable respuesta, es decir la superficie de cicatrización de la úlcera cutánea (considerada a través del modelo no lineal (♦)) cada uno de los factores considerados en el estudio: el Sexo (macho y hembra), el Tipo de Tratamiento (Grupo Control, Agua Destilada, Suero Fisiológico, Suero Glucosado y Agua Oxigenada), el factor sujeto y sus correspondientes interacciones.

En este caso, teniendo en cuenta el modelo propuesto (♦), expresamos cada parámetro como una función que depende de un efecto fijo debido a los factores considerados y la interacción entre ellos, y un efecto aleatorio debido al sujeto:

$$d_{75} = \mu_{d_{75}} + \mu_t + \mu_{sx} + \mu_{t*sx} + \varepsilon_d, \text{ con } \varepsilon_d \sim N(0, \sigma_d)$$

$$\theta = \mu_\theta + \mu_t + \mu_{sx} + \mu_{t*sx} + \varepsilon_\theta, \text{ con } \varepsilon_\theta \sim N(0, \sigma_\theta)$$

siendo $t = 1, 2, \dots, 5$; $sx = 1, 2$.

Consideramos, además, que S0 no depende del tratamiento administrado ni del sexo del animal, sino de la herida producida en el extirpado de la piel con un punch de 8 mm de diámetro.

Llegados a este punto, desarrollamos tres propuestas a saber:

Modelo 1: Modelo mixto sin efectos fijos

En este primer apartado se estiman los parámetros del modelo (♦) considerando ausencia de efectos fijos, es decir, la variabilidad es debida únicamente al sujeto:

$$d_{75} = \mu_{d_{75}} + \varepsilon_d, \text{ con } \varepsilon_d \sim N(0, \sigma_d)$$

$$\theta = \mu_\theta + \varepsilon_\theta, \text{ con } \varepsilon_\theta \sim N(0, \sigma_\theta)$$

En la Tabla 2 se muestra la salida de resultados obtenida con el programa R haciendo uso del paquete que permite estimar el modelo de efectos mixtos no

lineal (nlme: nonlinear mixed-effects). En ésta Figuran los valores estimados de los parámetros, que resultan significativos en los tres casos (p-value < 0.001).

Modelo 1.					
Modelo de efectos mixtos, sin efectos fijos					
Parameter	Estimate	Std. Error	DF	t-value	p-value
S0	45.24426	1.05288	891	42.9717	0.000
d50	6.45821	018123	891	35.6354	0.000
θ	-0.38959	0.02424	891	-16.0694	0.000
$\hat{\sigma} = 1.8387$					

Tabla 2

Siendo las desviaciones típicas estimadas $\hat{\sigma}_s = 6.7305$, $\hat{\sigma}_d = 1.2068$, $\hat{\sigma}_\theta = 0.1409$ y la desviación típica del residuo del modelo 1 $\hat{\sigma} = 1.8387$ (inferior a la desv. típica obtenida con el procedimiento nls de la Tabla 1).

En la Figura 5 se representa para cada animal la nube de puntos de la superficie de la úlcera cutánea a lo largo de los 20 días de observación con la línea de

ajuste obtenida mediante regresión polinómico local (en color rojo), junto con la estimación del modelo de efectos mixtos no lineal, sin efectos fijos (en color azul).

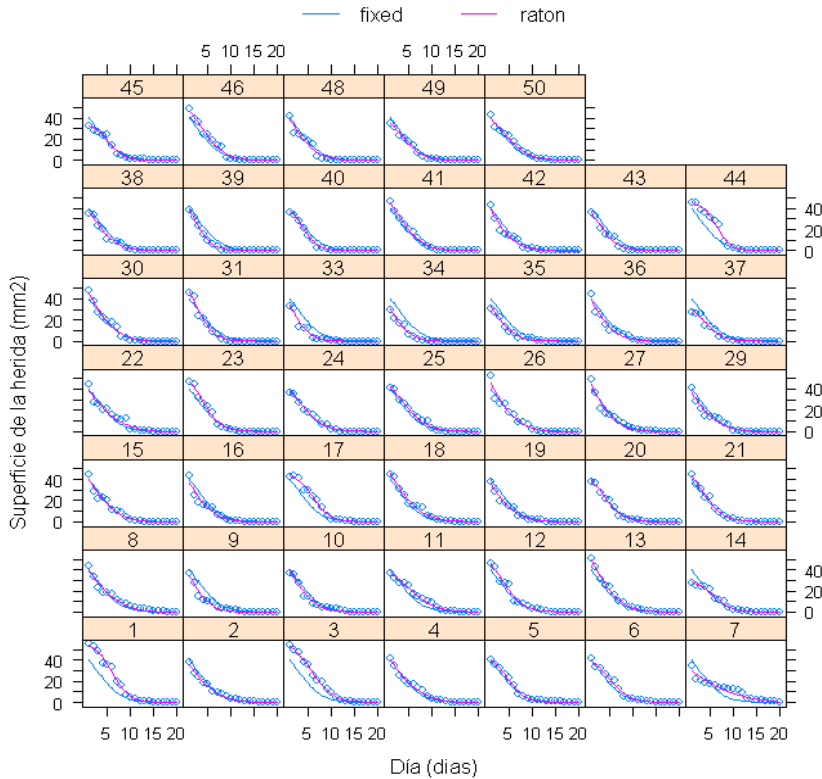


Figura 5

Modelo 2. Modelo mixto con efectos fijos debido a los factores sexo y tipo de tratamiento

En este caso planteamos el modelo mixto con efecto fijo debido a los factores tipo de tratamiento administrado

y sexo del animal y la interacción entre los mismos, quedando así la expresión de los parámetros:

$$d_{75} = \mu_{d_{75}} + \mu_t + \mu_{sx} + \mu_{t*sx} + \varepsilon_d, \text{ con } \varepsilon_d \sim N(0, \sigma_d)$$

$$\theta = \mu_\theta + \mu_t + \mu_{sx} + \mu_{t*sx} + \varepsilon_\theta, \text{ con } \varepsilon_\theta \sim N(0, \sigma_\theta)$$

siendo $t = 1, 2, \dots, 5$; $sx = 1, 2$.

En la Figura 6 se muestran las trayectorias de la superficie de cicatrización de la úlcera cutánea de cada animal diferenciada por sexo:

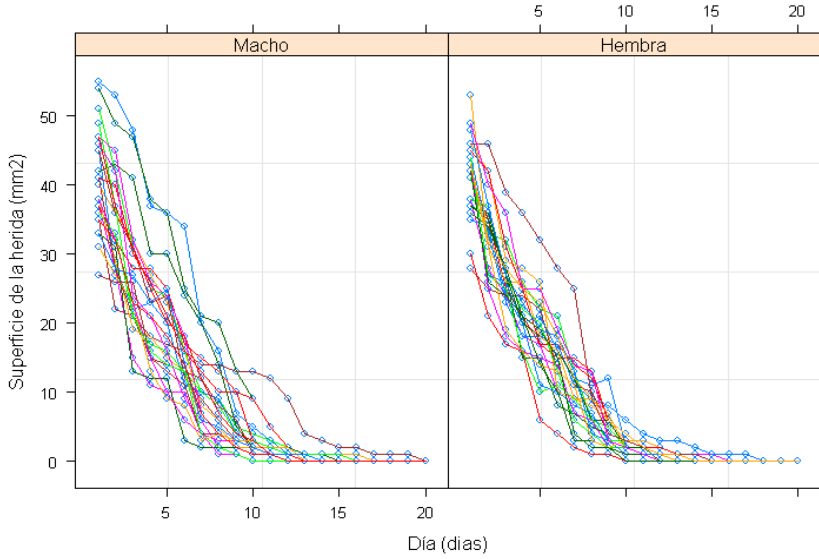


Figura 6

Asimismo, en la Figura 7 puede observarse la evolución de la superficie de cicatrización de la úlcera cutánea de cada animal según el tipo de tratamiento administrado.

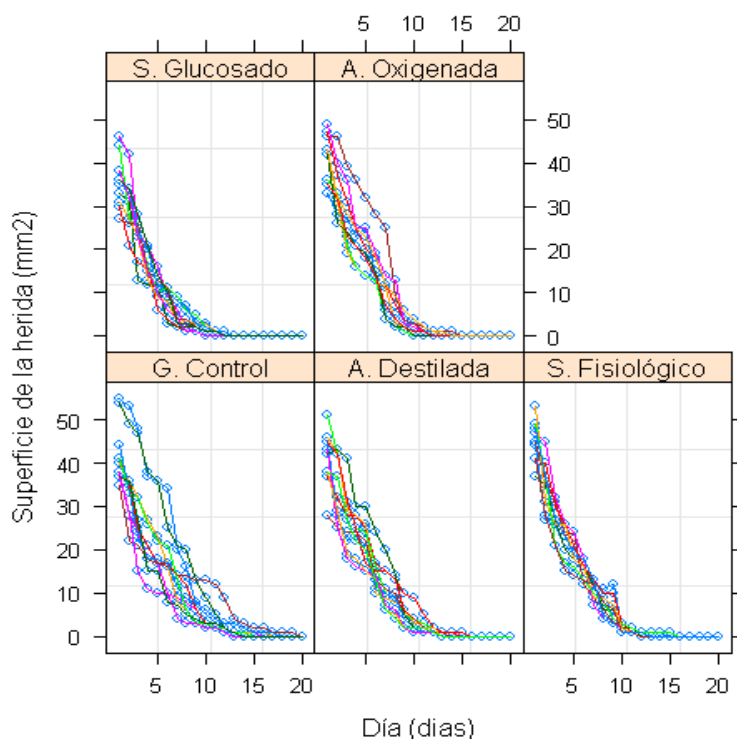


Figura 7

Utilizando el procedimiento ANOVA, se contrasta el modelo 1 de efectos mixtos sin efectos fijos (Tabla 2) frente al modelo 2 teniendo en cuenta el efecto fijo debido al sexo, tipo de tratamiento y la interacción

entre ambos. La salida de resultados, se concreta en la Tabla 3, donde se comprueba que únicamente el factor tipo de tratamiento afecta significativamente al parámetro d75. Concluimos, por tanto, que la variación de la superficie de cicatrización de la úlcera cutánea a lo largo del tiempo hasta el cierre total depende únicamente del tratamiento asignado al animal.

Modelo 2.					
ANOVA con 2 factores: Sexo y Tipo de Tratamiento					
	Num DF	Den DF	F-value	p-value	Resul- tado
S0. (Intercept)	1	873	2320.2850	<0.0001	Signif.
d75. (Intercept)	1	873	1928.9740	<0.0001	Signif.
d75. tratamiento	4	873	5.9924	0.0001 < 0.05	Signif.
d75.sexo	1	873	0.3676	0.5445 > 0.05	NS
d75.trat:sex o	4	873	0.9067	0.4594 > 0.05	NS
θ. (Intercept)	1	873	323.4041	<0.0001	Signif.
θ. tratamiento	4	873	2.2888	0.0582 > 0.05	NS
θ.sexo	1	873	2.1307	0.1447 > 0.05	NS

0. tratamiento: sexo	4	873	0.6532	0.6247 > 0.05	NS
----------------------------	---	-----	--------	------------------	----

Tabla 3

En la Figura 8 se representan las trayectorias de la superficie de cicatrización de la úlcera cutánea de cada animal por sexo y para cada uno de los 4 tipos de tratamiento y el grupo control.

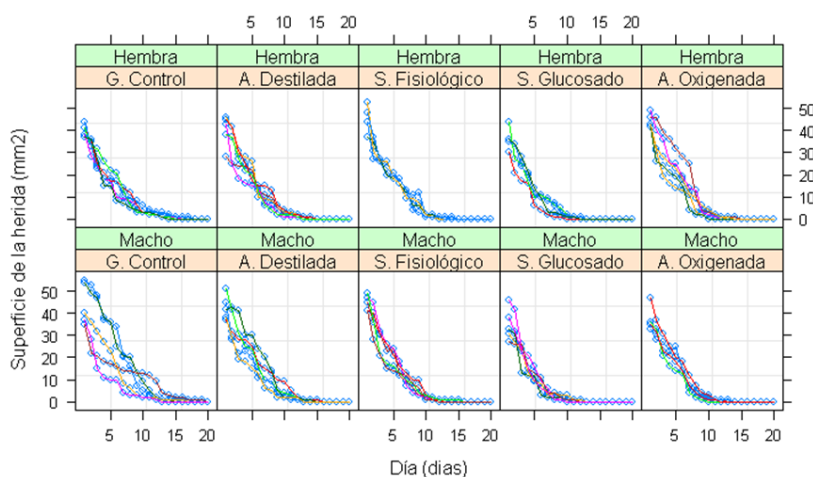


Figura 8

Asimismo, en la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos con el procedimiento ANOVA que nos permiten decir que el modelo 2 (Modelo mixto con efectos fijos debido al sexo y tipo de tratamiento)

resulta significativamente mejor que el modelo 1 (Modelo mixto sin efectos fijos) ($p\text{-valor} = 0.024 < 0.05$).

Model	1	2
df	7	25
AIC	4204.961	4209.277
BIG	4238.882	4238.882
logLik	-2095.481	-2079.639
Test		1 vs 2
Test		31.635
Test		0.024

Tabla 4

Modelo 3: Modelo mixto con efectos fijos debido sólo al tipo de tratamiento, considerando θ independiente de ambos factores

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos (Tabla 3) que permiten concluir que la variable respuesta no depende del sexo del animal, en este caso realizamos la estimación de los parámetros mediante el modelo 3 considerando:

$$d_{75} = \mu_{d_{75}} + \mu_t + \varepsilon_d, \text{ con } \varepsilon_d \sim N(0, \sigma_d)$$

$$\theta = \mu_\theta + \mu_t + \varepsilon_\theta, \text{ con } \varepsilon_\theta \sim N(0, \sigma_\theta)$$

siendo $t = 1, 2, \dots, 5$; $s_x = 1, 2$.

Utilizando el procedimiento ANOVA obtenemos los resultados de la Tabla 5 que nos permiten decir que el modelo 3 (Modelo mixto con efectos fijos debido al tratamiento) respecto al modelo 2 (Modelo mixto con efectos fijos debido al tratamiento y sexo) no difiere significativamente ($p\text{-valor} = 0.5742 > 0.05$), es decir, ambos resultan equivalentes, de modo que a partir de ahora consideramos el modelo 3.

Model	2	3
df	25	15
AIC	4209.277	4197.838
BIG	4238.882	4197.838
logLik	-2079.639	-2983.919
Test		2 vs 3
Test		8.56091
Test		0.5742

Tabla 5

En la Tabla 6 se muestran los resultados del procedimiento ANOVA que demuestra, además, que el modelo 3 (Modelo mixto con efectos fijos debido al tratamiento) resulta significativamente (p-valor =0.0032 < 0.05) mejor que el modelo 1 (Modelo mixto sin efectos fijos).

Modelo	3	1
df	15	7
AIC	4197.838	4204.961
BIG	4197.838	4238.882
logLik	-2983.919	-2095.481
Test		3 vs1
Test		23.1226
Test		0.0032

Tabla 6

En la Tabla 7 se presentan los resultados del procedimiento ANOVA para el modelo 3 resultando significativos los valores estimados, y en particular, el efecto del tipo de tratamiento sobre el parámetro d75.

Modelo 3. ANOVA con el factor tipo de tratamiento					
Pará- metros	Num DF	Den DF	F-value	p-value	Resul -tado
S0	1	883	2264.4930	<0.0001	Signif.
d75. (Intercept)	1	883	1807.7818	<0.0001	Signif.
d75.trat	4	883	5.5932	0.0002 < 0.05	Signif.
theta. (Intercept)	1	883	298.3450	<0.0001	Signif.
θ.trat	4	883	1.9908	0.0939	NS
$\hat{\sigma} = 1.8381$					

Tabla 7

Siendo las desviaciones típicas estimadas $\hat{\sigma}_s = 6.7871$, $\hat{\sigma}_d = 0.9912$, $\hat{\sigma}_\theta = 0.1273$ y la desviación típica del residuo del modelo 3 $\hat{\sigma} = 1.8381$ (similar a la desv. típica obtenida para el modelo 1).

En la Figura 9 se muestra la evolución de la superficie de la úlcera cutánea, $S(d)$, para cada tipo de tratamiento.

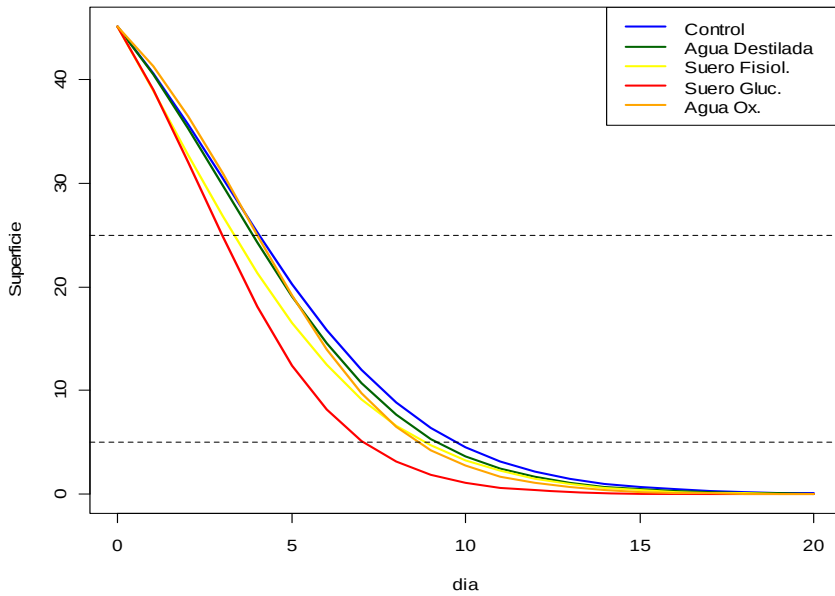


Figura 9

En la Tabla 8 figuran los valores estimados de d_{75} y θ por tipo de tratamiento, y el de S_0 , según el modelo 3, resalta el menor número de días necesario para cerrar el 75% del tamaño de la herida cuando se utiliza para la limpieza el suero glucosado.

Modelo 3.				
Estimadores de los parámetros por tipo de tratamiento				
S0.(Intercept)				
45.08242729				
d75. (Intercept)	d75 Agua Destilada	d75 Suero Fisiológico	d75 Suero Glucosado	d75 Agua Oxygenada
7.20132369	6.82823162	6.33824827	5.23844251	6.60402938
θ .(Intercept)	θ Agua Destilada	θ Suero Fisiológico	θ Suero Glucosado	θ Agua Oxygenada
-0.3489092	-0.37571707	-0.31816915	-0.49445421	0.45879361

Tabla 8

En la Tabla 9 se muestran los intervalos de confianza al 95% con los que se estiman las diferencias, de los parámetros d75 y θ para los distintos tratamientos, respecto al tratamiento 1 o control (Intercept).

Intervalos de confianza al 95% de las diferencias respecto al control			
	Lower	Estimate	Upper
S0	42.9968580	45,08242729	47.167996582
d75.(Intercept)	6.5581814	7,20132369	7.844466018
d75.tratamiento 2	-1.2792787	-0,37309207	0.533094562
d75.tratamiento 3	-1.7929787	-0,86307542	0.066827890
d75.tratamiento 4	-2.8950768	-1,96288118	-1.030685577
d75.tratamiento 5	-1.5266976	-0,59729431	0.332108960
θ . (Intercept)	-0.4419288	-0,34890920	-0.255889621
θ .tratamiento 2	-0.1577439	-0,02680787	0.104128167
θ .tratamiento 3	-0.1007011	0,03074005	0.162181162
θ .tratamiento 4	-0.2950637	-0,14554501	0.003973693
θ .tratamiento 5	-0.2456586	-0,10988941	0.025879813

Tabla 9

Resultando significativa la diferencia de d75 para el tratamiento 4 (suero glucosado). Asimismo, y como ya referimos, se puede apreciar en la Tabla 8, que cuando se utiliza el Suero Glucosado, se requieren unos 5 días para que la herida haya alcanzado un cierre de un 75% de la superficie inicial, frente al resto de tratamientos que requieren uno o dos días más.

4.2. Microbiología.

En este apartado se pretende analizar si la evolución de la flora microbiana depende de los factores considerados, a saber, tipo de tratamiento aplicado y sexo del animal, a lo largo de cinco momentos distintos de observación.

Las mediciones de la flora microbiana, sobre los animales que participaron en el estudio de la ulcerometría, se realizaron al inicio del experimento, a los 3, 7, 10 y 14 días con objeto de detectar el efecto que puede provocar sobre ésta los factores sexo del animal, tipo de tratamiento (1: Control, 2: Agua Destilada, 3: Suero Fisiológico, 4: Suero Glucosado, 5: Agua Oxigenada) y la interacción entre ambos.

El conjunto de datos final cuenta con un total de 49 animales, 10 por cada tratamiento (5 machos y 5 hembras), salvo en el tratamiento 5 en el que hay 9 por el motivo explicado en este mismo apartado de resultados (4 machos y 5 hembras).

Dado que la variable dependiente flora microbiana toma valores muy extremos, y con objeto de corregir el efecto que ello provoca sobre la dispersión, a la hora de realizar el análisis estadístico de los datos, se propone la siguiente transformación numérica:

$$\text{Log}_{10}(1 + \text{flora microbiana}).$$

Al aplicar el Modelo Lineal General con medidas repetidas (utilizando el software SPSS 15 para Windows). Entre los resultados del procedimiento, el test de Levene para la igualdad de las varianzas resultó estadísticamente significativo para los niveles de flora microbiana observados a los 7, 10 y 14 días (Tabla 10). Con lo que se rechaza la igualdad de varianzas entre grupos, con una significación del 1%.

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas error^a				
	F	Gl1	Gl2	Significación
B_Inicio	1,662	9	39	,132
B_3 días	1,164	9	39	,345
B_7 días	3,657	9	39	,002
B_10 días	3,204	9	39	,005
B_14 días	8,093	9	39	,000

Contrasta la hipótesis nula de que la varianza error de la variable dependiente es igual a lo largo de todos los grupos.

a. Diseño: Intersección+Sexo+Tratamiento+Sexo*

Tratamiento

Diseño intra sujetos: Tiempo

Tabla 10

Las Figuras 10 y 11 corresponden a los “diagramas de caja y bigotes” que permiten apreciar la dispersión de los niveles de flora microbiana (al inicio, a los 3, 7 10 y 14 días) entre sexos y entre tipos de tratamiento

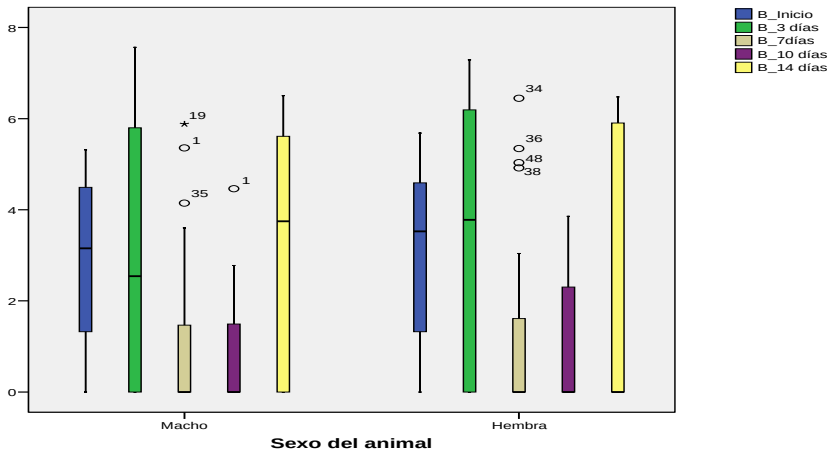


Figura 10

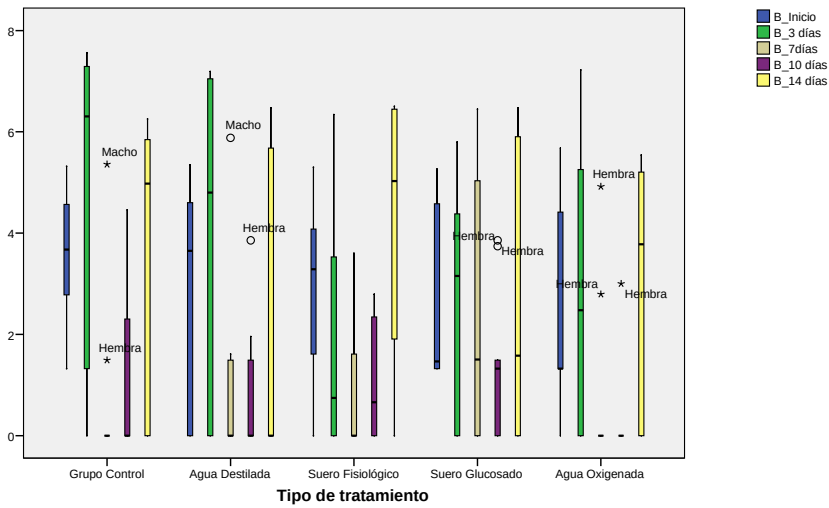


Figura 11

Los resultados de la prueba de Mauchly, que permite contrastar la hipótesis nula de que la matriz de covarianza error de la variable dependiente transformada es proporcional a una matriz identidad, ha resultado significativa ($p\text{-valor} < 0.05$), de modo que los datos no satisfacen el supuesto de esfericidad. En este caso, consideramos la alternativa del análisis multivariado (Tabla 11).

Contrastes multivariados^c

Efecto		Valor	F	Gl de la hipótesis	Gl del error	Significación
Tiempo	Traza de Pillai	,677	18,821 ^a	4,000	36,000	,000
	Lambda de Wilks	,323	18,821 ^a	4,000	36,000	,000
	Traza de Hotelling	2,091	18,821 ^a	4,000	36,000	,000
	Raíz mayor de Roy	2,091	18,821 ^a	4,000	36,000	,000
Tiempo * Tratamiento	Traza de Pillai	,366	,981	16,000	156,000	,480
	Lambda de Wilks	,669	,973	16,000	110,619	,491
	Traza de Hotelling	,444	,957	16,000	138,000	,507
	Raíz mayor de Roy	,258	2,515 ^b	4,000	39,000	,057
Tiempo * Sexo	Traza de Pillai	,021	,189 ^a	4,000	36,000	,942
	Lambda de Wilks	,979	,189 ^a	4,000	36,000	,942
	Traza de Hotelling	,021	,189 ^a	4,000	36,000	,942
	Raíz mayor de Roy	,021	,189 ^a	4,000	36,000	,942
Tiempo * Tratamiento * Sexo	Traza de Pillai	,500	1,394	16,000	156,000	,151
	Lambda de Wilks	,530	1,598	16,000	110,619	,081
	Traza de Hotelling	,831	1,792	16,000	138,000	,038
	Raíz mayor de Roy	,759	7,403 ^b	4,000	39,000	,000

a. Estadístico exacto

b. El estadístico es un límite superior para la F el cual ofrece un límite inferior para el nivel de significación.

c.

Diseño: Intersección+Tratamiento+Sexo+Tratamiento * Sexo

Diseño intra sujetos: Tiempo

Tabla 11

En la que observamos que la evolución del número de gérmenes a lo largo del tiempo no depende significativamente del tipo de tratamiento aplicado, ni del sexo del animal. Sin embargo, llama la atención el resultado obtenido con respecto a la asociación entre la evolución de la flora microbiana y la interacción sexo*tratamiento.

Se muestran, a continuación, las gráficas de la evolución a lo largo del tiempo de la variable Flora Microbiana y la transformada $\text{Log}_{10}(1 + \text{flora Microbiana})$, según el tipo de tratamiento: reflejadas en las Figuras 12 y 13

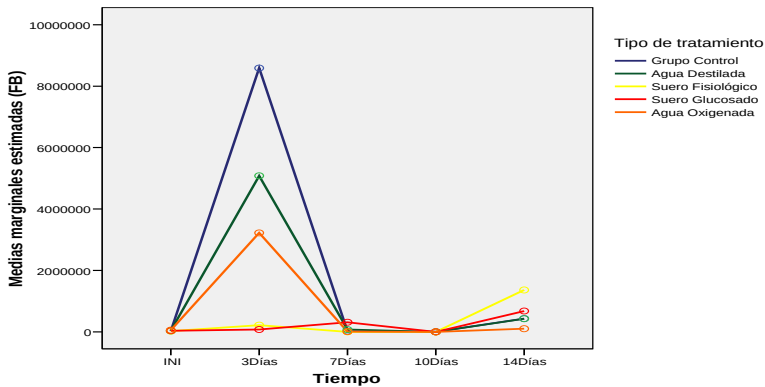


Figura 12

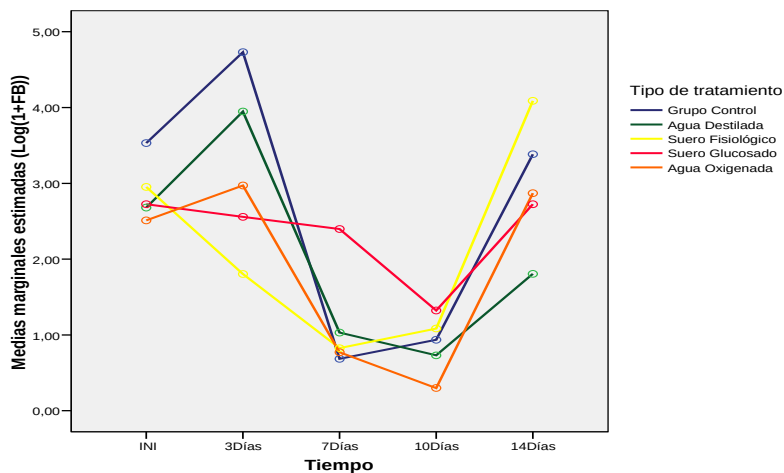


Figura 13

Para cada sexo: reflejadas en las Figuras 14, 15, 16 y 17

Sexo del animal = Macho

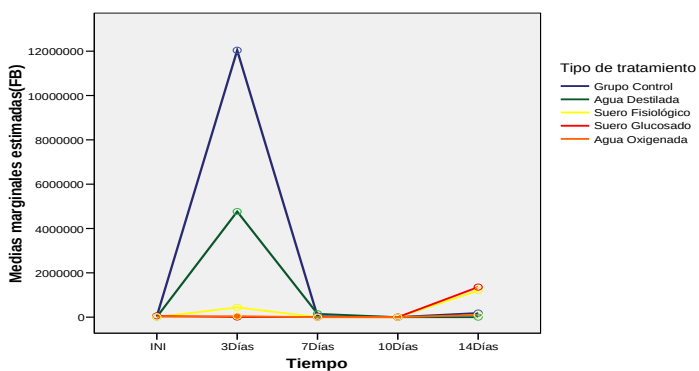


Figura 14

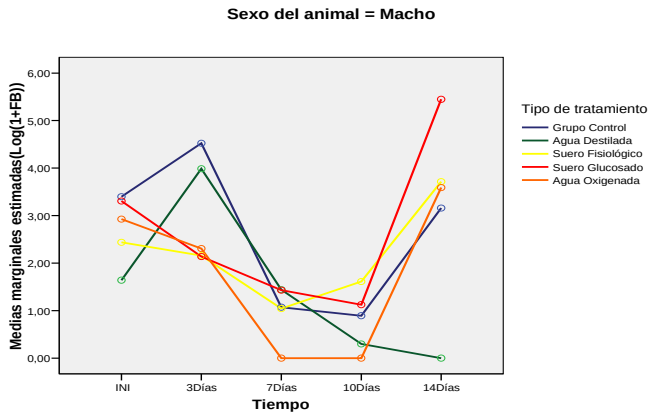


Figura 15

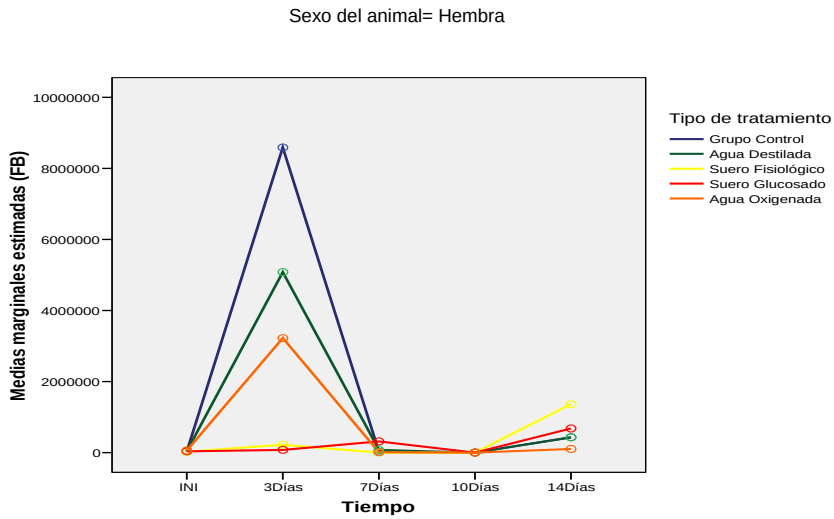


Figura 16

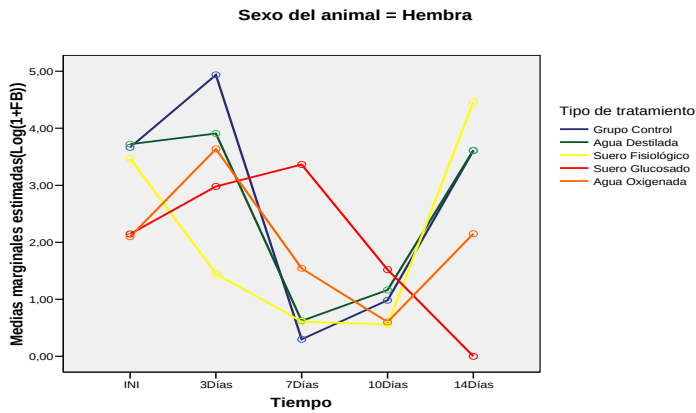


Figura 17

A continuación se muestran las gráficas de la evolución (Figura 18) a lo largo del tiempo de la variable Flora Microbiana y la transformada $\text{Log}_{10}(1 + \text{flora Microbiana})$ para cada uno de los 49 animales observados.

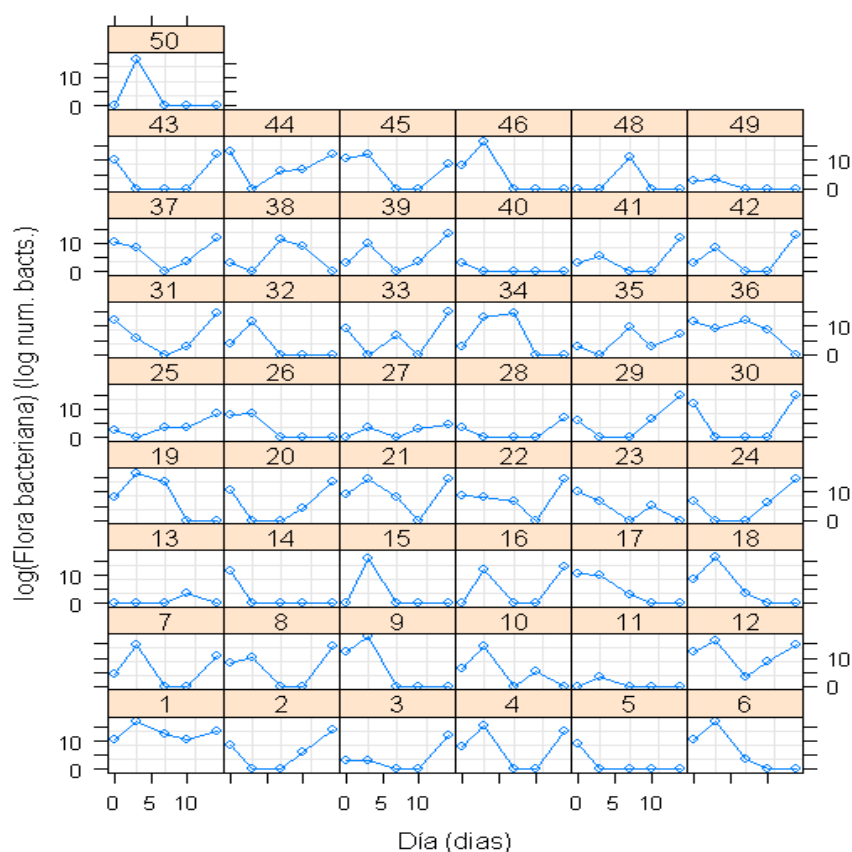


Figura 18

Se presentan seguidamente, las gráficas de la evolución de la flora microbiana de cada animal según sexo y tipo de tratamiento (Figuras 19 y 20).

Se superpone en color negro y con trazos discontinuos las medias de cada producto a lo largo de los distintos días de observación.

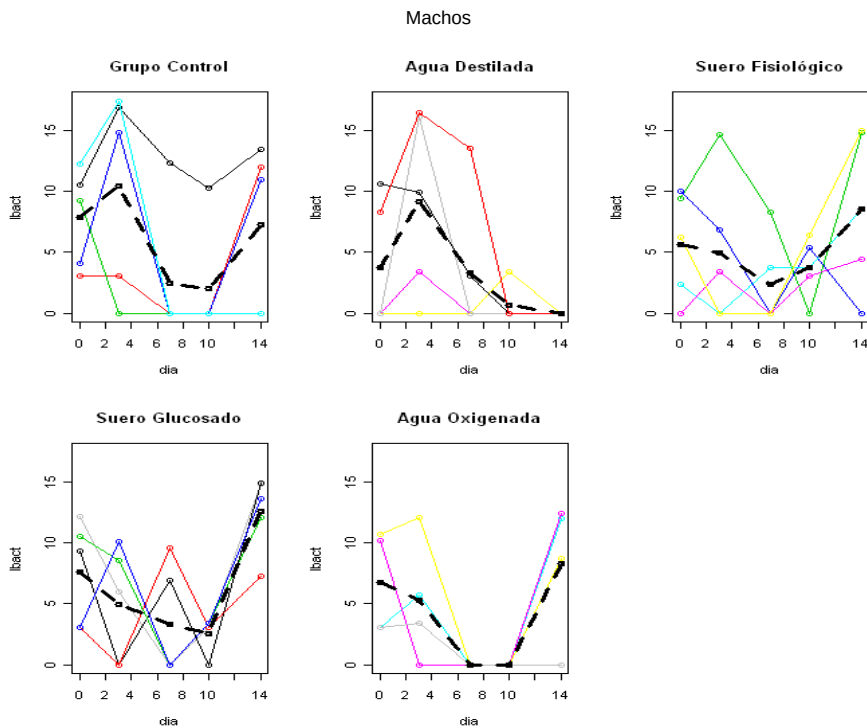


Figura 19

Hembras

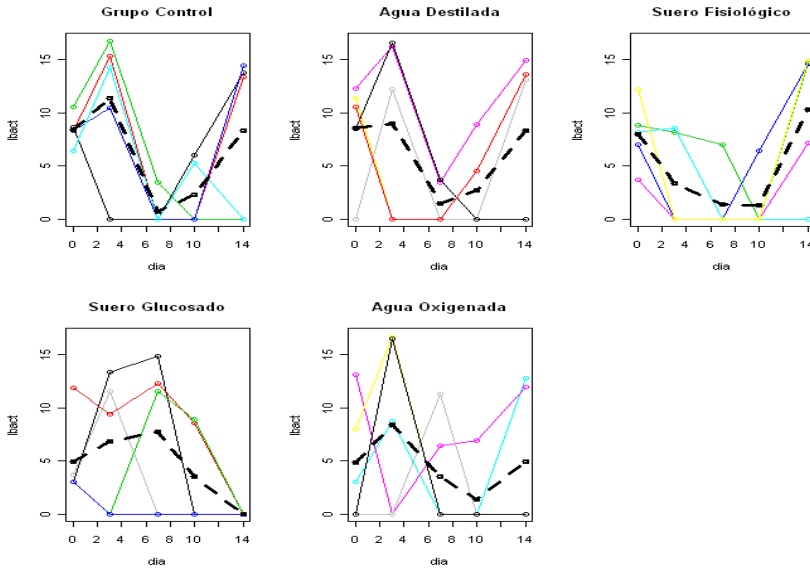


Figura 20

Se puede apreciar la variabilidad de la flora encontrada en cada animal, diferenciado por grupo de tratamiento y por sexo.

4.3. Histología.

Los parámetros analizados en cada una de las muestras son :

Grado de epitelización, Costra de la herida, Grado de cierre (aproximación de los márgenes de reepitelización), presencia del tejido de granulación, de capilares y folículos pilosos.

Para una mejor comprensión de los hallazgos, procederemos a valorar las diferentes muestras diferenciadas por el momento en que fueron tomadas (72 horas, 7 días y 14 días) y abordando inicialmente una valoración general del estado del proceso de cicatrización para posteriormente entrar a valorar aspectos concretos de las muestras en función de los diferentes tratamientos realizados a la herida, así comenzamos por:

Observaciones Histológicas a las 72 horas

Descripción histológica general

Todas las muestras se encuentran en fase proliferativa. Desde la superficie al interior se diferencian las siguientes partes:

- Costra
- Neutrófilos acumulados en la zona profunda de la costra colindante con la siguiente capa de fibrina.
- En los extremos de la lesión se observa en muchas de las muestras crecimiento del epitelio a modo de una fina lengüeta formada por una o dos capas de células epiteliales que se insinúa entre la capa profunda de la costra y la siguiente capa de fibrina.
- Ancha capa de Fibrina que forma una matriz en la que se encuentran neutrófilos y células migrantes. Tanto el grosor de esta capa como la cantidad de células que se encuentran en ella es variable.
- Tejido conectivo laxo subcutáneo en el que se observa Tejido de granulación en forma de pequeños grupos de vasos con más o menos células en sus cercanías. Entre estas células se encuentran células cebadas, neutrófilos,

monocitos y fibroblastos. Llama la atención la abundante cantidad de adipocitos en esta capa en las muestras procedentes de hembras, en algunas de ellas, presentan un aspecto de tejido adiposo con procesos de adipogénesis. Es en ese tejido donde se encuentran grupos incipientes de tejido de granulación.

- La capa correspondiente a la fascia ha sido cortada en sus extremos observándose que estos se acercan hacia la epidermis formando la fascia una curvatura en la capa dérmica que constituye una especie de frontera entre la zona sana y la lesionada o en reparación. El espacio lesionado en que falta la fascia está ocupado por tejido conectivo subcutáneo que se continúa insensiblemente con el de la capa superior.

Tanto desde el tejido de granulación como desde la dermis sana que circunda los folículos pilosos, así como desde el tejido conectivo que envuelve a la fascia y sobre todo desde la parte más interna de esta, se observan células migrantes hacia la zona lesionada, aspecto este, característico de la fibroplasia.

Estos caracteres coinciden con la llamada fase proliferativa, que se caracteriza por la proliferación y afluencia de células con fines reparadores. En ella se producen los siguientes procesos que se solapan entre sí: Reepitelización, Fibroplasia y Angiogénesis.

Definimos este estadio como fase proliferativa temprana, en la que destaca el comienzo de la regeneración del epitelio, aparición temprana del tejido de granulación e incipiente fibroplasia y angiogénesis.

De manera individualizada podemos ver la valoración a las 72 horas (tabla 12) de cada animal en función de sexo y tipo de tratamiento.

El número de cruces hace referencia al menor (menos cruces) o mayor (más cruces) grado de epitelización.

Valoración a las 72 horas			
Ani- mal	Grupo	Sexo	Hallazgos
101	Control	macho	• Costra • Epitelio: gran separación de bordes • Epitelización: (+++++) • Dermis: No migración

102	Control	hembra	• Costra, • Epitelio: gran separación de bordes, epitelización algo mas retrasada. • Epitelización: (++) • Dermis: + tejido adiposo, + migración que 101
201	Agua destilada	macho	• Costra • Epitelio: Epitelización: (+), • Dermis: poca migración
202	Agua destilada	hembra	• Costra • Epitelio: Epitelización: (++) • Dermis: poca migración, + tejido adiposo
301	Suero Fisiológico	macho	• Costra • Epitelio: Epitelización: (++) • Dermis: poca migración, tejido adiposo
302	Suero Fisiológico	hembra	• Costra • Epitelio: Epitelización: (++) • Dermis: tejido adiposo, + migración que 301
401	Suero Glucosado	macho	• Costra • Epitelio: Epitelización: (++) • Dermis: poca migración
402	Suero Glucosado	hembra	• Costra • Epitelio: Epitelización: (+) • Dermis: algo migración
501	Agua Oxigenada	macho	• Costra • Epitelio: Epitelización: (++) y 1/2) • Dermis: + migración
502	Agua	hembra	• Costra

	Oxigenada		• Epitelio: Epitelización: (+ y 1/2) • Dermis: + migración
--	-----------	--	---

Tabla 12

A continuación, podemos ver imágenes a pocos aumentos (Imagen 1) en las que se observa la disposición de las capas y a mayor aumento (Imagen 2) las características de cada una de ellas

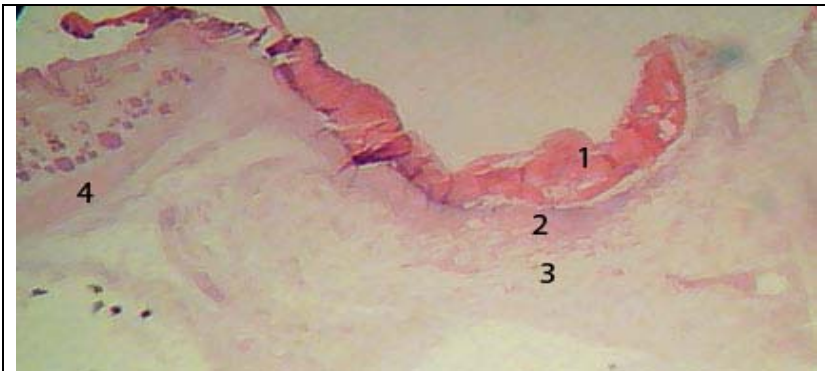


Imagen 1 (72 horas)

Se observa la distribución por capas de los distintos componentes: Costra (1), Capa de fibrina (2) y Tejido conectivo subcutáneo (3). El extremo de corte de la fascia (4) se acerca a la epidermis y la fascia muestra una curvatura que delimita la zona no lesionada.

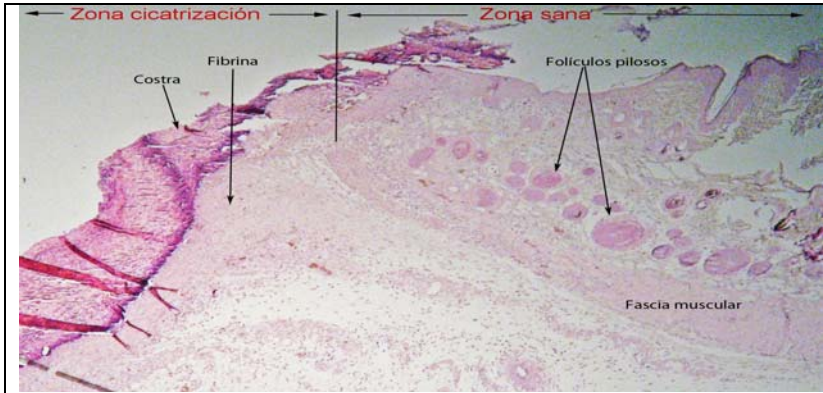


Imagen 2 (72 horas)

Se observa un lateral de la parte mas superficial de la zona lesionada. El límite que separa la zona sana de la que está en proceso de cicatrización, queda determinado por el extremo de la fascia que se acerca al epitelio. Están señalados diferentes componentes como costra, fibrina, folículos pilosos y fascia muscular.

Aspectos relativos a los diferentes tratamientos de manera más pormenorizada.

Reepitelización:

A las 72 horas se observa que ha comenzado el crecimiento del epitelio desde los bordes de la herida hacia la zona central a modo de lengüeta que se extiende en una longitud mayor o menor debajo de la costra. También se observa proliferación y migración de queratinocitos desde los anexos cutáneos (folículos pilosos y glándulas sebáceas) cercanos al borde de la herida.

Por otra parte, procedemos a medir el tamaño del epitelio que avanza desde el borde de la herida hacia el centro de la misma, en cada animal, para valorar la rapidez en el cierre y la capacidad de regeneración de tejidos, en función del mayor tamaño del epitelio, resultando como vemos en la (Tabla 13) para cada grupo una media expresada en mm. de:

Regeneración de tejidos en función del tratamiento		
Orden	Medición	Grupo / Tratamiento
1 ^{er} lugar	7.07 mm.	Agua Oxigenada
2 ^o lugar	5.83 mm.	Suero Fisiológico
3 ^{er} lugar	4.58 mm.	Suero Glucosado
4 ^o lugar	3.75 mm.	Grupo Control
5 ^o lugar	3.36 mm.	Agua destilada

Tabla 13

Por lo que encontramos un mejor comportamiento del grupo cuyo tratamiento se realizó con Agua Oxigenada, seguido del de Suero Fisiológico, algo menor el de Suero Glucosado, aún menor el Grupo Control al que no se realizó limpieza hídrica y por último el de Agua destilada.

Podemos apreciar la realización de esta medición en la siguiente (Imagen 3)

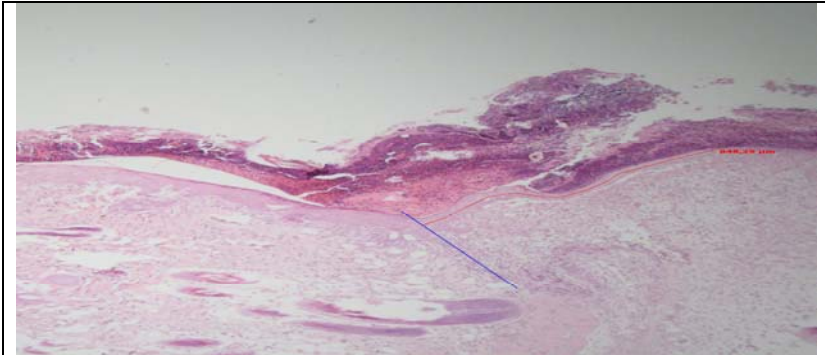


Imagen 3 (72 horas)

Esta muestra en azul la línea de referencia establecida como punto de partida o punto 0 para hacer la medición: la perpendicular al epitelio trazada desde el extremo de la fascia.

Tejido de granulación y Fibroplasia

Tejido de granulación.

A las 72h se observa la presencia de tejido de granulación en forma de grupos dispersos o formando una banda que aparece en alguna o algunas de las siguientes localizaciones: en los extremos del corte de la fascia, en el tejido conectivo subfascial, en la zona de fibrina más cercana a la costra y en la zona más profunda de la capa de fibrina o cercana a esta en la

zona de tejido conectivo subyacente, como podemos apreciar en la siguiente (Imagen 4).

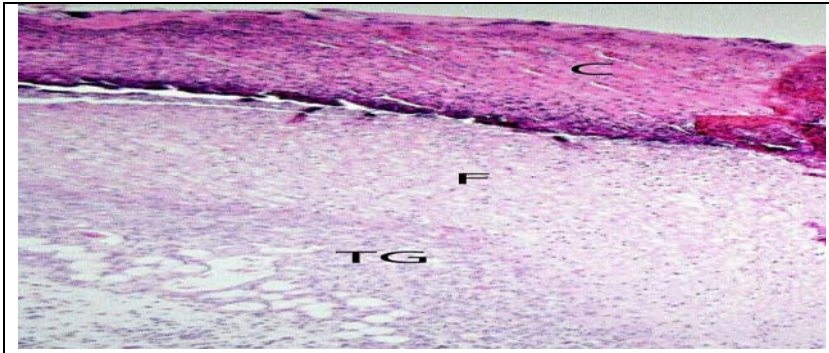


Imagen 4 (72 horas)

Se diferencian bien bajo la costra (C) la zona correspondiente a la dermis ocupada por la red de filamentos de fibrina (F) y mas profundamente el tejido de granulación (TG).

En la muestra control del macho aparece solo en los extremos del corte de la fascia y en el tejido conectivo subfascial, mientras que en la hembra también aparecen pequeños grupos entre los adipocitos del tejido conectivo subyacente.

Además de las tablas de valoración individualizadas por animales (Tablas 12, 15 y 18) de las diferentes muestras de tejido analizadas en los distintos días de toma de muestras, es decir a las 72 horas, 7 días y 14 días y dado que la valoración Histológica es cualitativa, en orden a valorar y clasificar los resultados estableciendo una serie de niveles que nos permita

ordenar en función de la mayor o menor presencia de un atributo o característica, o un orden que vaya de lo mas alto a lo mas bajo y viceversa, es por lo que optamos por utilizar una escala de medición ordinal, ya que según Therese ¹³⁵, estas escalas admiten la asignación de números en función de un orden prescrito y permiten establecer categorías con dos o mas niveles que implican un orden inherente entre si. De esta forma y para su mejor comprensión, procedemos a realizar varias escalas de medición ordinal, en función de otros tantos parámetros reflejados en las siguientes tablas numeradas como 14, 16, 17, y 19.

De este modo, en la Tabla 14 se puede apreciar la valoración histológica de los animales de los diferentes grupos, en orden de mayor a menor presencia de tejido de granulación:

Valoración según presencia del tejido de granulación		
Orden	Animales	Grupo / Tratamiento
1 ^{er} lugar	501 y 502	Agua Oxigenada
2 ^o lugar	301 y 301	Suero Fisiológico
3 ^{er} lugar	201 y 202	Agua destilada
4 ^o lugar	101 y 102	Grupo Control
5 ^o lugar	401 y 402	Suero Glucosado

Tabla 14

Fibroplasia.

A las 72 horas se observan algunas células migrantes desde la dermis sana colindante hacia la capa de fibrina. Estas células fibroblásticas proceden fundamentalmente del tejido conectivo de la fascia, sobre todo de su parte interna, y del tejido conectivo dérmico colindante, sobre todo de las zonas bordeantes a los anexos cutáneos, concretamente de los folículos pilosos y glándulas sebáceas. No se aprecia diferencia entre los distintos tratamientos.

Podemos apreciar esta disposición en la siguiente (Imagen 5)

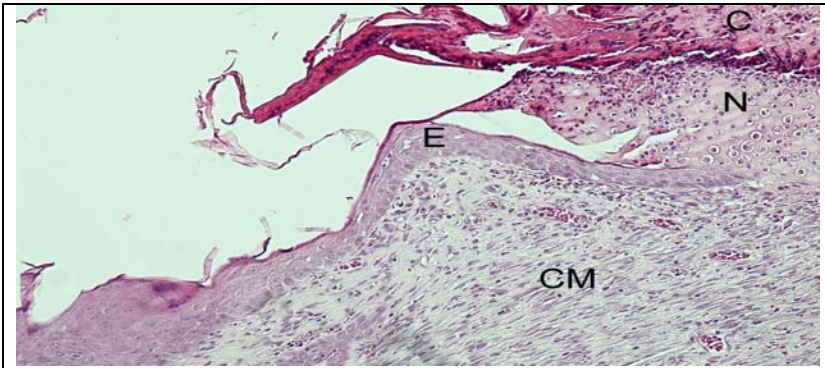


Imagen 5 (72 horas)

Se observa la lengüeta de epitelio (E) en crecimiento extendiéndose entre la capa de neutrófilos (N) de la costra (C) y la dermis que está siendo colonizada por células migrantes (CM) procedentes de la zona sana colindante.

Angiogénesis

A las 72 horas no se observa crecimiento vascular hacia las capas superficiales. Los vasos se encuentran situados en la zona subyacente a la capa de fibrina y en su mayoría forman parte del tejido de granulación.

Observaciones Histológicas a los 7 días

Descripción histológica general

La costra ha disminuido de tamaño o ha desaparecido. El epitelio ha crecido, observándose lengüetas de crecimiento de distintas longitudes, extremos bastante cercanos o incluso ya cerrado, como podemos apreciar en la (Imagen 6).

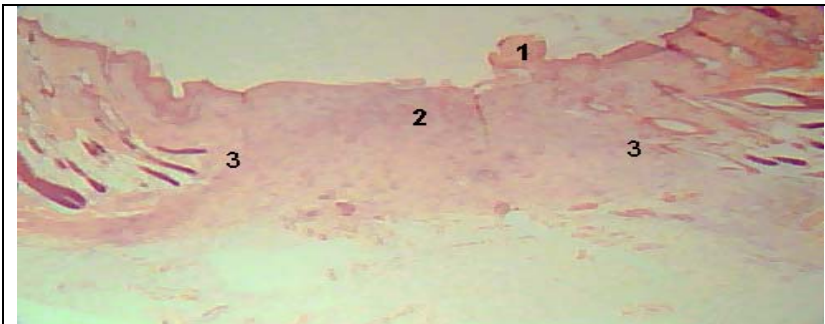


Imagen 6 (7 días)

Gran parte de la costra (1) ha desaparecido, el epitelio está en estado avanzado de cierre, en la dermis subepitelial hay tejido de granulación (2) y células migrantes desde el tejido conectivo sano colindante y desde el tejido conectivo de la fascia (3). Los extremos de la fascia no están tan cercanos al epitelio como a los 3 días.

El epitelio regenerado se diferencia del epitelio sano en que es más grueso. Por otro lado se puede apreciar distintos grados de madurez que se manifiestan en la ausencia o presencia de células granulosas en su estrato más superficial y en un grado más avanzado la presencia de queratina, (aspectos que utilizamos para ver el grado de progreso regenerativo).

Subyacente al epitelio, cuando este está presente, o, mas concretamente, la capa que anteriormente estaba ocupada por fibrina, se encuentra ahora ocupada por multitud de células migrantes, muchas de ellas dispuestas paralelamente a la superficie; entre ellas y perpendicularmente se observan abundantes vasos capilares, aspecto este característico del proceso de angiogénesis, como podemos apreciar en la (Imagen 7).

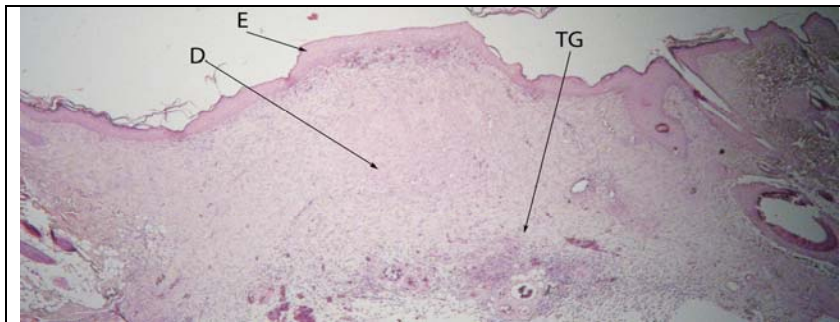


Imagen 7 (7 días)

Corte excéntrico en el que se observa el epitelio (E) completamente cerrado. Se diferencia del epitelio de la zona sana colindante en su mayor grosor y ausencia de queratina. La dermis (D) muestra una estructura fibrilar, procesos de angiogénesis y tejido de granulación (TG) en su parte profunda.

Es frecuente la observación de células en mitosis tanto entre las células migrantes como en las células del endotelio de los vasos, así como procesos de diapedesis a través de las paredes de los vasos. Todas las muestras se encuentran en fase proliferativa avanzada.

De manera individualizada podemos ver la valoración a los 7 días (tabla 15) de cada animal en función de sexo y tipo de tratamiento.

El número de cruces hace referencia al menor (menos cruces) o mayor (más cruces) grado de epitelización.

Valoración a los 7 días			
Animal	Grupo	Sexo	Hallazgos
103	Control	macho	• Epitelio completo, grueso (7a8 capas) • Si migración • Células horizontales • Vascularización
104	Control	hembra	• Algo de costra • Epitelización avanzada (++++), • Celulas horizontales • Vascularización
203	A.destilada	macho	• Epitelio completo, grueso (8 a 9 capas), • Celulas horizontales • Vascularización
204	A.destilada	hembra	• Algo de costra

			• Epitelización avanzada, (+++) • Celulas horizontales • Vascularización
303	Suero Fisio-lógico	macho	• Algo de costra • Epitelio casi cerrado, (++++ y $\frac{3}{4}$) • Celulas horizontales • Bastante vascularizado
304	Suero Fisio-lógico	hembra	• Costra • Epitelización avanzada, (++++ y $\frac{1}{4}$) • Celulas horizontales • Vascularización
403	Suero Gluco-sado	macho	• Costra • Epitelio casi cerrado (++++ y $\frac{1}{2}$), • Celulas horizontales • Bastante vascularizado
404	Suero Gluco-sado	hembra	• Epitelio cerrado grueso 6 a7 capas • Celulas horizontales • Folículos pilosos laterales • Queratina • Vascularizado, parece que los vasos se están reestructurado
503	Agua Oxigenada	macho	• Costra • Epitelización: (++++ y $\frac{1}{2}$), epitelio casi cerrado Celulas horizontales • Vascularización
504	Agua Oxigenada	hembra	• Epitelio: Cerrado completamente, grueso (8 capas), • Celulas horizontales • Vascularización

Tabla 15

Aspectos relativos a los diferentes tratamientos de manera más pormenorizada.

Reepitelización

A los 7 días se observan algunas diferencias en las fases de crecimiento del epitelio según los distintos tratamientos, observándose:

- epitelio aun sin cerrar, con costra, lengüeta de crecimiento epitelial fina y amplio espacio sin epitelio (muestra con tratamiento Agua destilada y grupo control, como podemos apreciar en la (Imagen 8)).

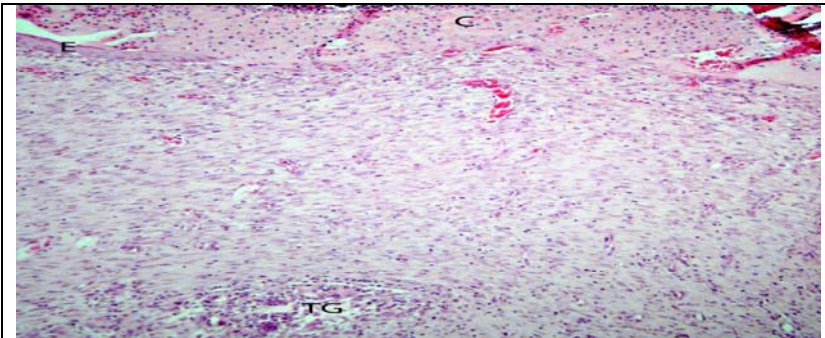


Imagen 8 (7 días)

En esta muestra en la que el epitelio (E) aún no se ha cerrado y queda aún costra (C), la capa de fibrina ha sido colonizada por células migrantes (fibroblastos y miofibroblastos) y por vasos sanguíneos que se extienden desde la zona subcutánea. En la parte inferior de la imagen se observa tejido de granulación (TG).

- epitelio aun sin cerrar, con pequeña costra pero con extremos de crecimiento muy cercanos (muestras con Tratamiento Suero Fisiológico).
- epitelio completamente cerrado (muestras con tratamiento de Agua Oxigenada y Suero Glucosado).

En las dos últimas el epitelio recién formado se caracteriza por ser bastante mas grueso que el epitelio sano de las zonas cercanas a la herida.

La mayor cantidad de estratos es indicativa de estadios menos avanzados, mientras que la presencia de células del estrato granuloso es indicativa de un estadio más avanzado así como lo es aún más la presencia de queratina.

En esta Tabla 16, podemos apreciar la valoración según el grado de epitelización, el número de capas encontradas en la muestra y la medición del grado de cierre de la herida, resultando lo siguiente en orden de mejor a peor valoración de estos parámetros:

Valoración según el grado de epitelización		
Orden	Animales	Grupo / Tratamiento
1 ^{er} lugar	503 y 504	Agua Oxigenada
2 ^o lugar	403 y 404	Suero Glucosado
3 ^{er} lugar	303 y 304	Suero Fisiológico
4 ^o lugar	103 y 104	Grupo Control
5 ^o lugar	203 y 204	Agua destilada

Tabla 16

Tejido de granulación, Fibropasia.

A los 7 días la capa de fibrina se encuentra completamente invadida por células fibroblásticas y por vasos, como apreciamos en la siguiente (Imagen 9).

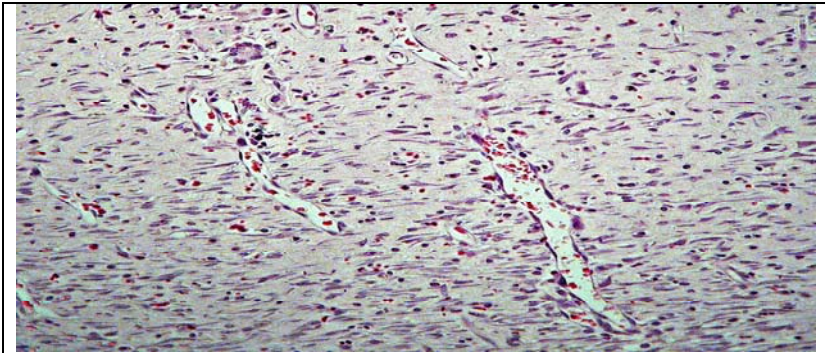


Imagen 9 (7 días) (40x).

Se observan numerosos vasos típicos del proceso de angiogénesis, numerosos fibroblastos y miofibroblastos que se disponen perpendicularmente a los vasos. En esta fase es frecuente la presencia de grandes células macrofágicas multinucleadas con los núcleos periféricos como la que se aprecia en la imagen.

La cantidad así como la disposición de estos dos elementos son indicativos de estadios más o menos avanzados. En el análisis de estas muestras vamos a diferenciar de más a menos los siguientes aspectos:

Células migrantes y capa de fibrina con fibroblastos oblicuos o no horizontales (signo de migración).

Fibroblastos dispuestos paralelamente a la superficie (horizontales) y en toda la extensión de la capa de fibrina.

Angiogénesis.

La capa de fibrina está ocupada por numerosos vasos de pequeño calibre (la mayoría capilares) predominando la disposición perpendicular a la superficie. Abundan las imágenes de bifurcación hacia la superficie y se observan mitosis en las células endoteliales.

Los vasos llegan hasta la zona colindante al epitelio donde se observan en gran cantidad con abundantes eritrocitos en su interior.

La fibroplasia y angiogénesis son dos procesos distintos pero simultáneos por lo que en la observación microscópica de las muestras se estudian conjuntamente.

En nuestras observaciones hemos apreciado que la proporción y localización de tejido de granulación, células migrantes, células horizontales y vasos, es indicativo del grado de madurez regenerativa, de tal modo que en los estadios menos avanzados se aprecia mayor proporción de tejido de granulación y células migrantes que van disminuyendo a medida que aumenta la de células horizontales y vasos, disminuyendo estos últimos en los estadios más avanzados. Estos aspectos son difíciles de medir, pero si son apreciables en un estudio comparativo.

En este estudio y teniendo en cuenta la proporción de los aspectos que se han descrito hemos apreciado el proceso de regeneración según vemos en la (Tabla 17) de mayor a menor grado el siguiente orden:

Valoración del grado de regeneración		
Orden	Animales	Grupo / Tratamiento
1 ^{er} lugar	503 y 504	Agua Oxigenada
2 ^o lugar	403 y 404	Suero Glucosado
3 ^{er} lugar	303 y 304	Suero Fisiológico
4 ^o lugar	103 y 104	Grupo Control
5 ^o lugar	203 y 204	Agua destilada

Tabla 17

Entre los tres últimos grupos se aprecian menos diferencias que entre estos con los dos primeros.

Observaciones Histológicas a los 14 días

Descripción histológica general

En todas las muestras analizadas no se aprecia la existencia de costra.

Excepto en una muestra el epitelio está completamente cerrado. Los signos que muestran un menor o mayor avance regenerativo son: la altura del epitelio (cuanto mas grueso menos avanzado) presencia de células granulosas, de queratina y de folículos pilosos en formación.

El tejido conectivo de la dermis subyacente al epitelio presenta menos células horizontales y vasos y mas fibras de la matriz extracelular.

En la zona mas profunda se aprecian aún procesos de fibroplasia y angiogénesis con células migrantes, células horizontales y vasos.

Una muestra de este estadio la encontramos en la (Imagen 10)

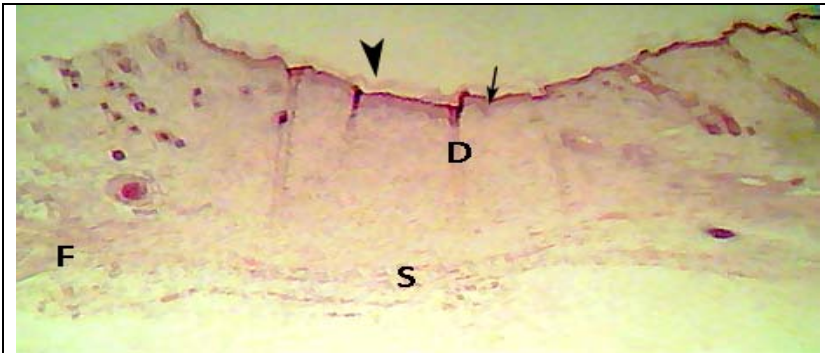


Imagen 10 (14 días)

La epidermis se encuentra completamente cerrada, con mas estratos que la de la zona sana, se observan comienzos proliferativos de folículos pilosos (flecha) y capa de queratina (cabeza de flecha). La dermis (D) carente ya de tejido de granulación ocupa todo su grosor original y muestra un aspecto bastante avanzado de regeneración si bien es aún muy diferente a la dermis de las zonas sanas colindantes. Los extremos de la fascia (F) y el tejido conectivo subcutáneo (S) han vuelto a su posición original.

Aspectos relativos a los diferentes tratamientos

Reepitelización

A los 14 días la mayoría de las muestras tienen el epitelio cerrado por lo que para estudiar su grado de progreso se tienen en cuenta otros aspectos diversos a los de las fases anteriores. Estos son:

- Epitelio completamente cerrado o no.
- Cantidad de estratos.
- Presencia o no de estrato granuloso.
- Presencia o no de queratina.
- Neogénesis de folículos pilosos.

De manera individualizada podemos ver la valoración de esos parámetros a los 14 días (tabla 18) de cada animal en función de sexo y tipo de tratamiento.

Valoración a los 14 días			
Ani- mal	Grupo	Sexo	Hallazgos
5	Control	macho	• Epitelio completo, fino (5 capas) • Todo con capa granulosa

			• Queratina, aspecto de cicatrización avanzada • menos vasos pero mas estructurados
6	Control	hembra	• Epitelio completo, + grueso (6 a 7 capas) • Estrato granuloso • Queratina • (menos avanzada la cicatrización) • Bastantes vasos
15	Agua destilada	macho	• Epitelio cerrado, grueso (8 a 9 capas) • Queratina • Foliculos pilosos • Celulas horizontales • Vascularización disminuye
16	Agua destilada	hembra	• Epitelio cerrado, grueso (6 a 7 capas) • Queratina • No foliculos pilosos • Vascularización disminuye
25	Suero Fisiológico	macho	• Epitelio prácticamente cerrado grueso (5 a 6 capas) • Queratina • Foliculos pilosos cerca de zona de cierre
26	Suero Fisiológico	hembra	• Epitelio prácticamente cerrado grueso (5 a 6 capas) • Queratina • Foliculos pilosos cerca de zona de cierre
35	Suero Glucosado	macho	• Cerrado completo, epitelio delgado (5 a 6 capas) • Queratina

			• Algo de Folículos pilosos • Vascularización bastante avanzada
36	Suero Glucosado	hembra	• Cerrado completo, epitelio delgado (5 a 6 capas), • Queratina, • Folículos pilosos • Células y vascularización avanzada
45	Agua Oxigenada	macho	• Cerrado completo, epitelio delgado (4 capas) • Capa granulosa • Queratina • La cicatrización más avanzada • Folículos pilosos • Vasos casi en su sitio, la matriz son fibras finas
46	Agua Oxigenada	hembra	• Cerrado completo grueso 5 a 6 capas • No folículos pilosos • Capa granulosa • Queratina, • Vasos casi en su sitio

Tabla 18

Remodelado del tejido conectivo

En esta etapa la zona correspondiente a la dermis muestra un aspecto algo más parecido al de la dermis de la zona no lesionada que al que tiene en las etapas anteriores. Son pocas las diferencias que se observan

entre los distintos tratamientos en la dermis a los 14 días. En general en todos los tratamientos se observa una ancha franja subyacente al epitelio que se extiende hasta la zona de la fascia e incluso mas al no existir esta. En la parte mas profunda hay tejido de granulación, células migrantes, etc, manifestaciones regenerativas similares a las observadas a los 7 días en la franja superior.

En la franja correspondiente a la dermis el tejido es más parecido a un tejido conectivo normal con la diferencia de que tiene una gran cantidad de fibroblastos y de fibras finas, con la misma morfología en todo su grosor sin diferenciarse dermis papilar y reticular. Es la presencia de folículos pilosos en formación lo que más diferencia a unos tratamientos de otros. Como podemos ver en estas imágenes , la presencia de folículos pilosos (Imagen 11) en una muestra con tratamiento de Agua Oxigenada y en la (Imagen 12) en la que observamos una proliferación de células epiteliales creciendo hacia la dermis y en un estadio menos avanzado en las muestras de Suero Fisiológico.

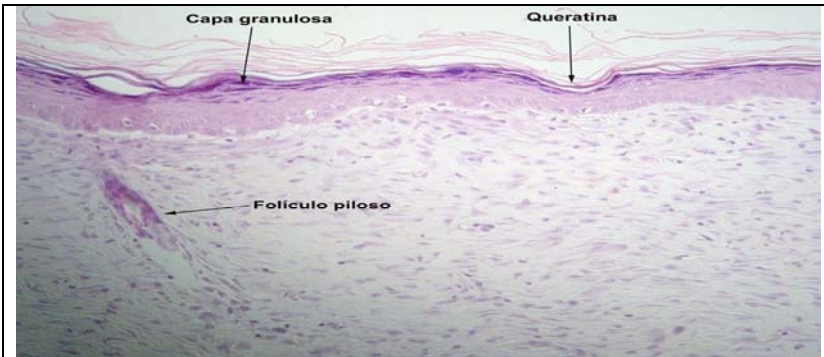


Imagen 11 (14 días), (muestra H₂O₂)
Epitelio con menos estratos que en la muestra de 7 días, capa granulosa completamente formada y queratina. Muestra en un estadio mas avanzado con estructuración de folículo

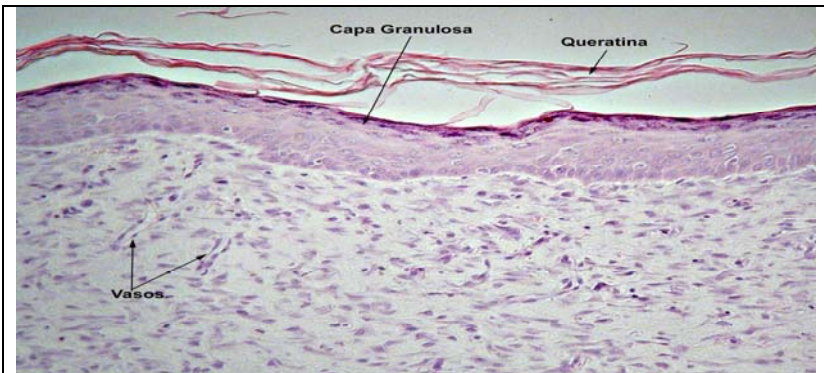


Imagen 12 (14 días), (muestra Suero Fisiológico)
Proliferación de células epiteliales que crece hacia la dermis, capa granulosa completamente formada, obsérvese en la dermis los numerosos vasos perpendiculares al epitelio típicos del proceso de angiogénesis.

Esta valoración se plasma en la (Tabla 19), valorando de mayor a menor cantidad:

Valoración de la regeneración		
Orden	Animales	Grupo / Tratamiento
1º lugar	45 y 46	Agua Oxigenada
2º lugar	25 y 26	Suero Fisiológico
3 ^{er} lugar	35 y 36	Suero Glucosado
4º lugar	15 y 16	Agua destilada
5º lugar	5 y 6	Grupo Control

Tabla 19

De manera general, en los machos se aprecia un estado mas avanzado de regeneración que en las hembras.

5

Discusión

5.-DISCUSIÓN

El cuidado de los pacientes con heridas o úlceras cutáneas ha constituido siempre una constante preocupación de los profesionales dedicados a tal menester, no en vano, todas las culturas muestran referentes en tal sentido ¹⁸⁻²⁰. Incluso, lesiones de aparente menor entidad clínica, requieren atención estricta para evitar complicaciones como las infecciones, ²¹ o también, para mejorar y acelerar su proceso de cicatrización o resolución.

Si bien es cierto que las heridas agudas casi siempre traumáticas, suelen evolucionar, salvo complicaciones, de forma adecuada, como señala Fonder et al ⁶, las

heridas o úlceras de carácter crónico, requieren procesos de cuidados más complejos. Y esto es así, hoy en día, porque aunque Virchow ⁷ describiera hace más de 100 años que la piel constituía una cubierta protectora de otras vísceras internas más delicadas y de función más sofisticada, actuando como una barrera pasiva contra la pérdida de líquidos y las agresiones mecánicas, autores e investigaciones más recientes ⁸⁻¹² han demostrado que la piel en si misma es un órgano complejo en el que las interacciones celulares controlan muchas respuestas importantes frente al medio ambiente, estando además formada por diversos tipos de estructuras celulares independientes que actúan en conjunto por un mismo objetivo. Incluso, como órgano más extenso del cuerpo, al que recubre en su totalidad, y gracias a esa gran diversidad de órganos y a las funciones diversas implícitas a los mismos ^{9,10}, el orgánulo cutáneo ya no lo interpretamos como una simple barrera protectora sino que va a intervenir en múltiples tareas orgánicas, tales como: Regulación hídrica y de electrolitos, regulación térmica, participación en el metabolismo de la vitamina D, etc. Es más, también desde una óptica histológica de carácter descriptivo de la piel, muchos histólogos ^{12, 14 -}

¹⁷, le incorporan matices funcionales a las diferentes capas o estratos que conforman la misma.

Al igual que ha sucedido con los estudios anatómicos e histológicos de la piel, que han evolucionado desde una mera concepción descriptiva de los mismos hacia propuestas más funcionales de los diferentes orgánulos y capas de la misma, se ha producido también respecto a los diferentes cuidados enfermeros dispensados a los pacientes portadores de heridas agudas y úlceras en el órgano cutáneo. Así se ha pasado de dispensar un “cuidado mecánico” para reparar la piel dañada mediante la adopción de una “cura tradicional” ²², hacia un “cuidado funcional” que propiciará el mantenimiento de todas las funciones de la piel, y no solamente las de barrera, a través de la implantación de la denominada “cura en ambiente húmedo”, adoptada a partir de los trabajos de Winter ^{24, 25, 43}.

Una actividad consustancial al cuidado de heridas y úlceras la constituye la limpieza de las mismas. Al tiempo que se contribuye a aportar hidratación a dichas lesiones en la línea sugerida por Winter ^{24, 25}, también se aminora la colonización microbiana ^{87, 89} sobre todo por el efecto mecánico de arrastre ^{56, 68} que

dicha actividad provoca en el lecho de la lesión cutánea si esta es realizada siguiendo las recomendaciones de la AHCPR²⁴.

En la limpieza de las heridas se ha recurrido al agua corriente, sobre todo en ambientes no clínicos, mientras que en ámbitos profesionales se ha dispuesto de una mayor diversidad de productos. Diversos estudios^{69, 70} no acaban de demostrar la eficacia contrastada de un producto de limpieza de heridas y úlceras, salvo en determinadas fases del proceso reparativo como hemos podido comprobar en estudios previos por parte de nuestro grupo de I+D+i⁷². Sin embargo, coincidiendo con estudios previos realizados por nosotros, muchos autores se decantan a la hora de seleccionar el producto clínico a aplicar en la limpieza de heridas y úlceras en base a criterios exclusivamente economicistas^{73, 75 - 81}. No obstante, la mayoría de autores se muestran favorables a la utilización de suero fisiológico^{91 - 93} para proceder a las tareas de la limpieza de heridas y úlceras.

Así pues, en base a recientes estudios de ámbito clínico^{96, 97}, algunos de ellos de revisión sistemática⁹⁸, en la utilización de diversos productos clínicos de

limpieza de heridas y úlceras ⁹⁹ , hemos seleccionado cuatro productos a saber: agua bidestilada, suero fisiológico, suero glucosado y agua oxigenada, que han sido utilizados en este estudio experimental, que sustenta la presente tesis doctoral, y hemos tratado de evaluar la incidencia de los mismos en la contracción evolutiva de la superficie ulcerativa en el animal de experimentación, en este tenor, la rata blanca de la cepa Sprague Dowley, así como las modificaciones provocadas por dichos productos en la cuantía de la flora microbiana desarrollada en el lecho ulcerativo y, finalmente, hemos valorado la calidad de la regeneración tisular inducida, en mayor o menor grado, por cada uno de los productos clínicos de limpieza de heridas y úlceras utilizados. Hemos pretendido con este experimento identificar aquel producto más idóneo para el problema relatado y que pueda ser aplicado con eficacia clínica en la resolución de las heridas y úlceras de los pacientes.

A pesar de los avances informáticos ^{127, 128} , utilizamos en nuestro trabajo de investigación experimental, un método de medición ulcerativa mediante la utilización de un modelo de utilidad desarrollado y patentado por el grupo de investigación en el que estamos integrados

⁵⁷ denominado “ulcerómetro” y que nos permite obtener la cuantificación planimétrica de las lesiones ulcerativas provocadas en el animal de laboratorio. Sin encontrarse diferencias significativas entre nuestra metodología y la referida por los autores reseñados ¹²⁷, ¹²⁸.

Respecto a la valoración histológica y microbiológica, que ha completado el estudio de la evolución cicatricial de úlceras cutáneas experimentales inducida por productos clínicos de limpieza de heridas, hemos seguido metodologías convencionales al respecto, con tinción de hematoxilina eosina para el estudio microscópico de las piezas histológicas y recogida de muestras y siembra en placa de cultivo para la cuantificación de las UFC.

Retomando el cronos de la descripción metodológica de nuestra tesis, y a la vista de la exposición de los resultados obtenidos en la misma, nos hemos decantado por la utilización de un modelo matemático no lineal, en la línea de los trabajos desarrollados por Cutjati et. al. ¹²⁸, ¹²⁹ para explicar el comportamiento de la dinámica cicatricial de las heridas con respecto al tiempo. La ventaja de utilizar un modelo no lineal que sustente la evolución de nuestros hallazgos planimétricos de superficies irregulares de las úlceras

experimentales producidas en los animales de laboratorio, radica en que se usa un menor número de parámetros respecto a un modelo polinómico lo que permite obtener una descripción de los datos más parsimoniosa es decir con menos dispersión. Asimismo, los modelos no lineales también proporcionan predicciones más fiables para la variable respuesta fuera del rango observado de los datos de lo que lo harían los modelos polinomiales ^{130, 131}.

Modelo que se ve corroborado con la alta significación estadística que muestran los tres parámetros valorados como son: la superficie inicial de la herida (SO), el día en que la superficie de la úlcera ha cicatrizado o disminuido su superficie en un 75 % de la superficie inicial (d75) y el parámetro θ que representa el valor de la pendiente en el día en que la superficie de la herida se ha cerrado un 75 % de la superficie inicial. Valores todos ellos que figuran reflejados en la Tabla 1 y que nos confirman la fiabilidad y validez del modelo propuesto para explicar la evolución dinámica de la cicatrización de los lechos ulcerativos en nuestro trabajo de experimentación. Sin embargo, las figuras 2 y 3, reflejan cierta dispersión de los datos estimados como corresponde a la variabilidad comportamental de cada animal estudiado en función de su sexo y de la

tipología de limpieza aplicada a cada espécimen. Resulta por ello obvio que la construcción de un modelo no lineal para cada animal de experimentación supone una estimación de 150 parámetros para el conjunto de los animales, lo que ocasiona una pérdida de objetividad del problema que pretendemos resolver, es decir la existencia o no de un efecto significativo de los diversos factores intervinientes (sexo, limpieza, etc.) sobre la variable respuesta o variable dependiente, o sea la superficie de las úlceras cutáneas. Ello nos motivó a la construcción de un modelo global que minimice tan elevado número de parámetros a considerar, así como la varianza residual. Así, consideramos, en este caso un modelo de efectos mixtos no lineal, teniendo en cuenta que queremos analizar en qué medida afecta a la variable respuesta, es decir la superficie de cicatrización de la úlcera cutánea, cada uno de los factores considerados en el estudio: el Sexo (macho y hembra), el Tipo de Tratamiento (Grupo Control, Agua Destilada, Suero Fisiológico, Suero Glucosado y Agua Oxigenada), el factor sujeto y sus correspondientes interacciones. De esta forma, con las diversas opciones que se nos plantearon, desarrollamos las siguientes tres propuestas:

1.- Modelo mixto sin efectos fijos.

La variabilidad es debida únicamente al animal

2.- Modelo mixto con efectos fijos.

Debido a los factores sexo y tipo de tratamiento

3.- Modelo mixto con efectos fijos.

Debido solo al tipo de tratamiento

Resulta finalmente, tras el análisis estadístico efectuado, que el modelo 2 es significativamente mejor que el modelo 1 y que el modelo 2 y el modelo 3, no difieren significativamente, por lo que optamos finalmente por el modelo 3, por utilizar menos parámetros en cada estadístico utilizado.

En base pues al modelo seleccionado, el mixto con efectos fijos debido solo al tipo de tratamiento, podemos comprobar la diferencia estadísticamente significativa para el parámetro d75 en el grupo de animales cuyos lechos ulcerativos fueron sometidos a limpieza mediante la utilización de suero glucosado (Tabla 9), que requiere unos cinco días para que la herida haya alcanzado un 75% del cierre de la

superficie respecto a la inicial, frente a los otros grupos de animales, cuya limpieza se realizó con el resto de tratamientos, que requieren uno o dos días más para lograr el mismo porcentaje de superficie de cierre cicatricial (Tabla 8).

De forma similar a lo expuesto, en la Figura 9 se representa la evolución de la superficie de las úlceras cutáneas (S(d)) para cada tipo de producto clínico de limpieza aplicado a las superficies ulcerativas de los diferentes grupos de animales objeto de estudio, reflejándose un mejor comportamiento de la dinámica evolutiva cicatricial en el grupo sometido a limpieza con suero glucosado, en una posición de eficacia, que podríamos denominar intermedia se muestra el grupo sometido a limpieza de sus lesiones con suero fisiológico y, en un agrupamiento apelotonado, el resto de los grupos bajo el influjo del agua oxigenada, del agua bidestilada y del grupo control.

Así pues, el mayor y mejor efecto cicatricial que presenta el suero glucosado en las fases iniciales de la reparación cutánea se corresponde con una favorable influencia sobre el período inflamatorio o exudativo de dicho proceso reparativo cuya duración se estima entre tres y cinco días ¹³ y cuyas reacciones inflamatorias

están presentes en todas las heridas y representa una reacción de defensa del organismo cuyo objetivo es la eliminación de los agentes nocivos, o en su defecto, su inactivación, la limpieza del tejido y también establecer las condiciones óptimas para los sucesivos procedimientos proliferativos ^{30, 31}.

Probablemente, en nuestros hallazgos, sea el aporte de glucosa el que establece ese matiz diferenciador respecto de los otros productos aplicados, al menos en esa fase inicial de inflamación / exudación que permite, finalmente, provocar una aceleración de la cicatrización de los lechos ulcerativos al incluir dicha reacción inflamatoria, en coincidencia con lo sugerido por autores como Rudolph et. al. ³².

Asimismo, comprobamos en el análisis microbiano, al estudiar la flora presente en las diversas muestras valoradas, una gran dispersión de parámetros en los diferentes días de la toma y en los diferentes grupos, como podemos apreciar en las Figuras 10 y 11, por lo que proponemos la transformación numérica de $\log_{10}$ (1 + flora microbiana), al objeto de hacer visible los datos de las muestras.

Al realizar el análisis multivariado (Tabla 11), encontramos que la evolución del número de gérmenes

a lo largo del tiempo, no depende significativamente del tipo de tratamiento aplicado ni del sexo del animal. Por tanto el análisis microbiano nos ofrece un resultado que nos permite apreciar los valores extremos de la flora encontrada y la no relación entre la colonización microbiana y el tipo de tratamiento administrado y a su vez, la no relación entre la colonización microbiana y el sexo del animal.

Estos hallazgos respecto de los valores extremos de la colonización microbiana, al menos durante la primera semana de nuestra experiencia, quedan reflejados en la Figura 12. En la misma se puede observar una colonización microbiana, prácticamente superpuesta en los grupos en los que se ha aplicado suero fisiológico o suero glucosado, en contraposición con los otros grupos en los que se ha utilizado agua destilada o agua oxigenada para proceder a la limpieza de las úlceras cutáneas, resultando evidente la gran colonización microbiana sufrida por estos últimos grupos de animales, respecto de los primeros.

A su vez, a partir de la primera semana, se produce una agrupación de los valores de la flora microbiana, no encontrando diferencias significativas en ninguno de los grupos estudiados, correspondiendo esta situación al cierre casi completo de todas las heridas

producidas en los diferentes animales independientemente del grupo al que pertenecen, con lo que la flora microbiana, vuelve a situarse en los valores encontrados en la toma de muestra microbiana de cada animal, al inicio del experimento.

Como hemos comentado, no destaca ningún producto sobre otro por el efecto de minoración de flora microbiana.

Este resultado podría justificarse por las características del ambiente donde se toman los datos de la muestra. Los valores extremos de la flora microbiana se pueden deber a las condiciones de habitabilidad de los animales, teniendo en cuenta varias cuestiones como: el cambio diario del sustrato de virutas de madera que se deposita en la jaula donde vive el animal con su correspondiente flora bacteriana, la autolimpieza que realiza el propio animal, a pesar de que la herida se ha producido en la zona del lomo medio-bajo, son capaces de llegar con la lengua y lamerse la herida, etc.

En una segunda fase del proceso de la cicatrización, a partir del quinto día, para la proliferación celular, sin menoscabar la participación de otros agentes que intermedian en el proceso reparativo desde sus inicios,

resulta imprescindible la neo vascularización que aporte oxígeno, elementos celulares y sustancias nutritivas ^{41,42} a la zona lesionada, para mediar en su rápida resolución. Es probablemente dicho aporte de oxígeno el que equilibra las diferencias evolutivas cicatriciales entre el grupo sometido a limpieza con suero fisiológico y el grupo al que se aplicó agua oxigenada. Sin embargo, el uso de este segundo producto, no resulta recomendable por sus efectos tóxicos sobre el tejido de granulación e, incluso por sus efectos sistémicos con su uso continuado según han defendido algunos autores ⁶⁷, por otra parte, en nuestro experimento se obtienen mejores resultados respecto a la mayor cantidad de tejido de granulación, precisamente con el uso de agua oxigenada, como queda acreditado en la (Tabla 12), al tiempo que también se obtiene un mejor grado de epitelización en la piel (Tabla 13) con mayor y más rápida regeneración del órgano cutáneo (Tabla 14), hechos todos que inciden finalmente en una mejor calidad de la piel (Tabla 15), circunstancia que también queda reflejada en la regeneración de los anejos cutáneos (Tabla 16 y 17). Así mismo, la cantidad o rapidez en la resolución de la lesión ulcerativa se ve favorecida en el grupo de animales sometidos a limpieza de sus lesiones

cutáneas con agua oxigenada al valorar la regeneración tisular y en concreto, la fascia, como queda acreditado en los resultados expuestos en la (Tabla 18).

En nuestra experiencia, la utilización de suero glucosado sigue manifestando un comportamiento muy favorable en la dinámica de la evolución cicatricial de los lechos ulcerativos de los animales que fueron tratados con dicho producto, incluso en este segundo período del proceso reparativo. Aun así, no es de despreciar en este período la utilización de suero fisiológico como elemento limpiador de las heridas y úlceras por sus efectos beneficiosos y por consideraciones de tipo economicista frente al suero glucosado ^{69,70}. En esta misma línea, trabajos anteriores de nuestro grupo ⁷² inciden en el efecto benéfico del suero fisiológico como favorecedor de los procesos de cicatrización, tomando en consideración también la utilidad del agua bidestilada al tener un comportamiento próximo al del suero fisiológico a partir del décimo día de iniciado el proceso de reparación y por las mismas consideraciones de tipo economicista del agua bidestilada frente al suero fisiológico.

Hemos destacado dos productos sobre el resto, por su

beneficiosa participación en el proceso de cicatrización; el suero glucosado en la dinámica de la evolución del cierre de las heridas y el agua oxigenada por sus mejores resultados en el grado de epitelización y en cantidad de tejido de granulación, lo que coincide por lo aportado por Rudolph et. al.³² concordando con la bibliografía que indica que el proceso de cicatrización aumenta el consumo de glucosa y oxígeno, por lo que son necesarios ambos productos.

Finalmente nos resultó imposible decantarnos por un solo producto a la hora de elegir el más adecuado para la limpieza de las úlceras cutáneas, dado que no se trata exclusivamente de una acción mecánica la que se pretende realizar, sino que este producto también va a incidir en otros parámetros que modulan la evolución cicatricial, tales como la eliminación física de restos orgánicos, el cierre superficial y volumétrico de la herida ulcerativa, la colonización o contaminación microbiana, la cantidad de tejido de granulación y rapidez en su formación, y la calidad de la regeneración tisular, de la epitelización, y la recuperación de anejos cutáneos, etc.

6

Conclusiones

6.-CONCLUSIONES

1. Se confirma la validez del modelo matemático propuesto para valorar la dinámica de cicatrización de las lesiones cutáneas.

$$S(d) = S_0 \cdot \frac{\left[\frac{1}{3} - \frac{d - d_{75}}{d_{75}} e^{\theta d_{75}} \right]}{\frac{1}{3} + e^{-\theta(d - d_{75})}} = f(d; d_{75}, \theta, S_0)$$

2. El modelo mixto con efectos fijos debido solo al tipo de tratamiento, se ha demostrado como el más eficaz para el análisis estadístico del cierre de heridas cutáneas

3. La utilización de suero glucosado para la limpieza, ha proporcionado una mayor eficacia en el cierre superficial cicatricial de las lesiones cutáneas.
4. La utilización de Suero Fisiológico, se muestra como la segunda más efectiva en el cierre superficial cicatricial de las lesiones cutáneas.
5. No parece haber relación con la cantidad de flora microbiana, ni entre los distintos productos de limpieza utilizados, ni el sexo del animal.
6. En nuestro estudio y en contraposición con otros autores, la utilización de Agua Oxigenada, ha proporcionado una mejor y más rápida regeneración del tejido cutáneo, tanto de granulación como de epitelización.
7. La utilización de Suero Glucosado, se muestra como la segunda más efectiva en la regeneración del tejido cutáneo, tanto de granulación como de epitelización, seguida de cerca por el Suero Fisiológico
8. Resulta conveniente profundizar en estudios que valoren la utilización de una combinación

adecuada de los productos que han demostrado su eficacia en las diferentes fases del proceso de cicatrización de heridas, en orden a encontrar el producto más eficaz para acelerar el proceso regenerativo.

9. Un ensayo clínico justificaría la proyección de estos hallazgos, avalando la utilización de una sinergia adecuada de productos de limpieza de heridas para mejorar la solución de los procesos que cursen con alteración de la integridad de la piel



Bibliografía

7.-BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Enciclopedia de medicina y enfermería MOSBY.
Barcelona: Océano Centrum; 1990.Tomo 2.
- 2.- Kozier B, Erb G, Blais KK, Wilkinson L.
Enfermería profesional: Tomo 2. 2ª ed. Madrid:
McGraw-Hill Interamericana; 1999.
- 3.- Dorland Diccionario Enciclopédico Ilustrado de
Medicina. 29ª ed. Madrid: McGraw-Hill,
Interamericana; 2003.
- 4.- Chocarro L, Venturini C. Procedimientos y
Cuidados en Enfermería Médico Quirúrgica. 8ª
ed. Madrid: Elsevier España S.A; 2006

5. PubMed [Base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; [actualizada 30 septiembre 2010; acceso 30 octubre 2010]. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- 6.- Fonder MA, Lazarus GS, Cowan DA, Aronson-Cook B, Kohli AR, Mamelak AJ. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. J Am Acad Dermatol. 2008 Feb; 58(2):185-206.
- 7.- Virchow R. Cellular Pathology. En: Cotran RS, Kumar V, Collins T. Patología Estructural y Funcional. 6^a ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2000. p. 33-51.
- 8.- Geneser F. Histología: sobre bases biomoleculares. 3^a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2000.
- 9.- Young B, Heath JW. Histología Funcional. 4^a ed. Madrid: Elsevier; 2007.
- 10.- Smeltzer SC, Bare BG. Enfermería Médico Quirúrgica. 12 ed. Esp. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2005.
- 11.- Junqueira LC, Carneiro J. Histología básica: texto y atlas. 5^a ed. Barcelona: Masson; 2000.

- 12.- Fawcett D, Jensh R. Compendio de Histología. 12ª Ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2000.
- 13.- Hartmann. [sede web]. Barcelona; 2008 [actualizada 05 mayo 2011; acceso el 8 de Julio de 2011]. Gestión de las heridas y su tratamiento y cuidados. Disponible en: http://www.es.hartmann.info/innovacion_en_la_cura.php.
- 14.- Gartner L, Hiatt J. Texto Atlas de Histología. 2ª ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2002.
- 15.- Aumailley M, Bruckner-Tuderman L, Carter WG, Deutzmann R, Edgar D, Ekblom P, et al. A simplified laminin nomenclature. Matrix Biol. 2005; 24 (5):326-32.
- 16.- Smith-Agreda V, Ferres-Torres E. Fascias: Principios de anatomo-fisio-patología. Barcelona: Paidotribo; 2004.
- 17.- Rouvière H, Delmas A, Delmas V. Anatomía humana: descriptiva, topográfica y funcional. 11ª ed. Barcelona: Masson S.A; 2006.
- 18.- Porter R. Breve historia de la medicina. 3ª ed. Mexico: Santillana; 2004.
- 19.- Harvey G. Historia de la cirugía. 2ª ed. Barcelona: Iberia; 1942.

- 20.- Mendoza J. Lecciones de historia de la medicina. 2^a ed. Bogotá: Centro Editorial Universidad del Rosario; 2003.
- 21.- Alex Attewell. Florence Nightingale (1820-1910). Revista trimestral de educación comparada (París. UNESCO: Oficina Internacional de Educación), 1998; 28 (1): 173-189.
- 22.- Arboledas Bellón J. ¡La cura tradicional!. Evidentia. [revista on-line] 2008 [acceso 11 de Febrero de 2011]; 5(19). Disponible en: <http://www.index-f.com/evidentia/n19/416articulo.php>
- 23.- Martínez F, Soldevilla JJ. El cuidado de las heridas: evolución histórica (1^a parte). Gerokomos/Helcos.1999; 10 (4): 182-192.
- 24.- Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelisation of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. Nature. 1962; 193: 293-4.
- 25.- Winter GD, Scales JT. Effects of fair drying and dressings on wounds. Nature. 1963;1: 97-9
- 26.- Koopmann CF Jr. Cutaneous wound healing. An overview. Otolaryngol Clin North Am. 1995; (28) :835-45.

- 27.- Herndon DN, Hayward PG, Rutan RL. Growth hormones and factors in surgical patients. *Adv Surg.* 1992; (25): 65-97.
- 28.- Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Patología Estructural y Funcional*. 6ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2000.
- 29.- McCarthy NJ, Smith CA, Williams GT. Apoptosis in the development of the immune system: growth factors clonal selection, and bcl-2. *Cancer Metastasis Rev.* 1992; 11(2):157.
- 30.- Pollack SV. Wound healing: a review. II. Environmental factors affecting wound healing. *J Dermatol Surg Oncol.* 1979; (6): 477-81.
- 31.- Koopmann CF. Wound healing: A review of factors affecting wound repair. In English G (ed): *Otolaryngology*. Philadelphia: JB Lippincott; 1991.
- 32.- Rudolph R, Vande Berg J, Ehrlich HP. Wound contraction and scar contracture. In Cohen IK, Diegelman RF, Lindblad WS (eds): *Wound Healing: Biochemical & Clinical Aspects*. Philadelphia: WB Saunders; 1992; 96-114.
- 33.- Tsuanawaki S, Spurn M, Ding A. Deactivation of macrophages by transforming growth factor B. *Nature* 1988; 334: 260-2.

- 34.- Neumann H. The role of oxygen in wound healing. En: Harting Kirsten (ed). Advanced Wound Healing Resource. Espergaerde: Coloplast AS, 1992.
- 35.- Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. J Cell Biol 1987; 105: 1039-1045.
- 36.- Sport MG, Roberts AB. Peptide Growth factors are multifunctional. Nature 1988; 332: 217-9.
- 37.- Sport MG, Roberts AB. Peptide Growth factors and inflammation, tissue repair and cancer, J Cini Invest 1986; 78: 329-332.
- 38.- Lawrence WT, Norton JA, Sport MB. The reversal of an adriamycin induced healing impaired with chemoattractants and growth factors. Ann surg 1986;203: 141-7.
- 39.- Lynch SE, Nixon JC, Colvin RB. Role of platelet-derived growth factors in wound healing: Sinergistic effects with other growth factors. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84: 7696-7700.
- 40.- Wheeland RG. The newer surgical dressings and wound healing. Dermatol Clin 1987; 5: 393.
- 41.- Romanelli M, Falanga V. Measurament of transcutaneous oxygen tension in chronic

- wounds. En: Falanga V, Shearman CP, Sandeman D (edts.). Chronic wound healing. Clinical measurement and basic science. London: W.B. Saunders; 2000. 68-80.
- 42.- Chufa HE, Cherry GW. Blood flow in patients with leg ulcers. En: Falanga V, Shearman CP, Sandeman D (edts.). Chronic wound healing. Clinical measurement and basic science. London: W.B. Saunders; 2000.
- 43.- Winter GD. J. Tissue Viability. Review. PMID. 2006; (16): 20-3.
- 44.- Gospodarowicz D, Neufeld G, Schweigerer L. Molecular and biological characterization of fibroblast growth factor. An angiogenic factor which also controls the proliferation and differentiation of mesoderm and neuroectoderm derived cells. USA: Cell Differ; 1986; 19: 1-17.
- 45.- Clark RAF. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. J Am Acad Derm. 1985; 13: 701-725.
- 46.- Boucek RJ. Factors affecting wound healing. Otolaryngol Clin North Am. 1984; 17: 243-264.
- 47.- Gabbianni G. The myofibroblast: A key cell for wound healing and fibroconnective diseases. Prog Clin Biol Res. 1981; 54: 183-194.

- 48.- Larrabee WF, Bolen JW, Sutton D. Myofibroblasts in head and neck surgery. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1988; 114: 952-6.
- 49.- Manjo G, Gabbianni G, Hirschel BJ. Contraction of granulation tissue in vitro: Similarity to smooth muscle. Science. 1971; 173: 548-550.
- 50.- Murray JC, Pinnell SR. Keloids and excessive dermal scarring. In Cohen IK, Diegelman RF, Lindblad WS (eds): Wound Healing: Biochemical & Clinical Aspects. Philadelphia: WB Saunders. 1992; 500-509.
- 51.- Van Winkle W. Wound contraction. Surg Gynecol Obstet. 1967; 125: 131-142.
- 52.- Alexander T, Trott, MD. Heridas y Cortes. Tratamiento y Sutura de Urgencia 3ª ed. Madrid. Elsevier; 2009.
- 53.- Capitan L, Cano A, Jiménez R. Guía Práctica de Urgencias Quirúrgicas. Sevilla: Indice y Marcapáginas SL; 2003.
- 54.- Price PE, Fagervik-Morton H, Mudge EJ, Beele H, Ruiz JC, Nyström TH, et al. Dressing-related pain in patients with chronic wounds: an international patient perspective. Int Wound Journal. 2008; 5 (2): 159-171.

- 55.- IASP [sede web] U.S.: International Association for the Study of Pain; [actualizada 2011; acceso 11 Mayo 2011]. Disponible en <http://www.iasp-pain.org>.
- 56.- Torra i Bou JE. Manual de sugerencias sobre cicatrización y cura en medio ambiente húmedo. Jarpyo Editores. Madrid 1997.
- 57.- Jiménez JF, Chacón R, Rodríguez BC, Estévez ML. Ulcerómetro® de Jiménez y Chacón. Enferm Cien. 2004; 262-263: 44-45.
- 58.- AHCPR [sede web]. U.S.: Agency for Health Care Research and Quality; 1992 [acceso 15 de abril 2011]. Clinical practice Guideline N° 3 Pressure ulcers in adults: prediction and prevention - Department of Health and Human Services. Publication n°. 92-0047. Disponible en <http://www.ahrq.gov/>.
- 59.- Joanna Briggs Institute. Solutions, techniques and pressure in wound cleansing. Nursing Standard [revista on-line] 2008. [acceso el 5 de Marzo de 2011]; 22 (27): 35-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18405014>.
- 60.- Rodríguez C. Ulceras crónicas. Un protocolo de cuidados y tratamiento. Rol 1993; 177: 65-69.

- 61.- Stephen T. Wound management and dressings. London: The Pharmaceutical Press; 1990.
- 62.- Morison M, Moffat C, Bridel-Nixon J Bale S. A colour guide to the nursing management of chronic wounds. London: Mosby; 1997
- 63.- Dealley C. The care of wounds, a guide for nurses. London: Blackwell Science; 1999.
- 64.- Maiques V, Zambrano A. Ensayo con un preparado enzimático en el tratamiento de diversos procesos ulcerativos. Rev. Clin. Esp. 1976; 142 (1): 67-69.
- 65.- Doria J. Tratamiento de úlceras crónicas con apósitos húmedos y oclusivos. Indicaciones de enfermería. Nueva Enfermería 1989; 70: 29-34.
- 66.- García F, Salvador MJ, Román MJ. Tratamiento de lesiones cutáneas combinando apósitos de hidrofibra e hidrocóloide extra fino. Rol 2002; 25: 131-134.
- 67.- Gneaupp.es [sede web]. España: Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento de las Úlceras por Presión; [actualización 3 de Mayo de 2011; acceso el 10 de Mayo de 2011]. Directrices generales sobre el tratamiento de las UPP. Documento técnico del GNEAUPP nº III. Disponible en:

- http://www.gneaupp.es/app/adm/documentos-guias/archivos/5_pdf.
- 68.- Pancorbo PL, García FP, Bermejo J, Pérez MJ, Ramírez MC, Alcázar MJ, et al. Efectividad de un programa de prevención de úlceras por presión en el hospital. *Gerokomos*. 1998; 9 (2): 25-34.
 - 69.- Fernández R, Griffiths R, Ussia C. Water for wound cleansing. The Cochrane Library, 2004.
 - 70.- García FP, Pancorbo PL, Rodríguez MC, Bellido JC. ¿Agua del grifo para la limpieza de heridas?. *Evidentia [revista en Internet]** 2005 septiembre-diciembre. [acceso 10 de Mayo de 2011]; 2(6). Disponible en: <http://www.index-f.com/evidentia/n6/143articulo.php> [ISSN: 1697-638X].
 - 71.- Jiménez JF, Chacón R, Limiñana JM. Validación clínico-estadística de cuantificación de superficies en úlceras por presión. *Gerokomos/Helcos*. 2000; 11 (3): 148-151.
 - 72.- Jiménez JF, Chacón R. Cicatrización “per secundam” inducida por suero fisiológico. *Enferm Cien*. 1998; 200-201: 17-18.
 - 73.- Bergeman R, Lauterbach KW, Vanscheidt W, Neander KD, Engst R. Economic evaluation of the treatment of chronic wounds. *Hydroactive*

- wound dressings in combination with enzymatic ointment versus gauze dressings in patients with pressure ulcers and leg ulcers in Germany. *Pharmaeconomics*. 1999; 16 (4): 367-377.
- 74.- Aparicio A et al . Ulceras por presión. *Enferm Cien*. 1997; 180-1: 11-13
- 75.- Hermoso V, Minguela F, Magallón P, Hernández A, Sáez L, et al. Estudio socio-economico de las enfermedades venosas. *Angiología* 1988; 40 (6): 203-5
- 76.- Moffatt C et al. Community clinics for leg ulcers and impact on healing. *BMJ* 1995; 305: 1389-1392
- 77.- Davis J. Healed al last. *Nursing Times* 1988; 84:32.
- 78.- Javitz HS, Ward MM, Martens L. Major costs associated with pressure sores. *J Wound Care* 1998; 7(6): 286-290
- 79.- Bale S, Hagelstein S, Harding KG. Cost of dressing the community. *J Wound Care* 1998; 7 (7): 327- 330.
- 80.- Xaquellis GC, Chrischilles EA. Hydrocolloid versus saline- gauze dressings in treating pressure ulcers: A cost-effectiveness analysis. *Arch Phys Med Rehabi* 1992, 73:463-9.

- 81.- Colwell JC, Foreman MD, TrotterJP. A comparison of the efficacy and cost effectiveness of two methods of managing pressure ulcers. *Decubitus* 1993; 6(4): 28-36.
- 82.- Bumpous J, Maves M. Total lymphocyte count as a predictor of wound complications in head and neck surgery. *Am J Surg.* 1991; 162: 412-5.
- 83.- Rodeheaver GT. Wound cleansing, wound irrigation, wound desinfection. In: Krasner D, Kane D. *Chronic Wound Care*. HMP. 1997. 13: 97-108.
- 84.- Thomas S. *Wound menagement and dressings*. London: The Pharmaceutical Press; 1998.
- 85.- Dow G, Browne A, Sibbald RG. Infection in chronic wounds: Controversies in diagnosis and treatment. *Ost Wound Manag.* 1999; 45(8): 23-40.
- 86.- McLean A, Dixon C. Infection control in surgical practice. In Wilmore D. et al.: *Care of the Surgical Patient*. New York: Scientific American; 1993, 1-12.
- 87.- Cooper RA, Ameen H, Price P, McCulloch DA, Harding KG. A clinical investigation into the microbiological status of 'locally infected' leg

- ulcers.  Int Wound Journal. 2009; 6 (6): 453-462
- 88.- Gardner SE, Frantz RA, Doebbeling BN. The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized wound infection. Wound Repair Regen 2001; 9(3):178-186.
- 89.- Alexander JW, Solomkin JS, Edwards MJ. Updated recommendations for control of surgical site infections. Ann Surg. 2011; 253(6):1082-93.
- 90.- Chvapil M, Koopmann CF Jr. Age and other factors regulating wound Ealing. Otolaryngol Clin North Am. 1982 May;15(2):259-70
- 91.- Lodovici O. Fatores locais que interferem sobre a cicatrização. In: Netto AC. Clínica cirúrgica. São Paulo: Sarvier; 1994. p. 139-44.
- 92.- Borges EL, Saar SRC, Lima VLAN, Gomes FSL, Magalhães MBB. Feridas: como tratar. Belo Horizonte: Coopmed; 2008. p.45-53.
- 93.- Santos VLCG. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: Duarte YAO, Diogo MJD. Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico. São Paulo: Atheneu; 2000. p.265-306.

- 94.- Bryant RA. Acute and chronic wounds: nursing managment. 2ª ed. St Louis: Mosby; 1992.
- 95.- Ashcroft GS, Hora MA, Ferguson WJ. Aging is associated with reduced deposition of specific extracellular matrix components, an upregulation of angiogenesis, and an altered inflammatory response in a murrine incisional wound healing model. J Invest Dermatol. 1997; 108-430.
- 96.- Liponelli G, Lawrence T. Wound dressings. Surg Clin North Am. 2003; 83: 617-38.
- 97.- Robson M. Cytokine manipulation of the wound. Clin Plast Surg. 2003; 30: 57-67.
- 98.- Thomas S, Loveless K. A comprenhensive study of the property of 12 hydrocolloids dressings. World Wide Wounds [revista en Internet]* 1997. [acceso 14 de Abril de 2010], Disponible en: <http://www.worldwidewounds.com>
- 99.- Heinzelmann M, Scott M, Lam t. Factors predisposing to bacterial invasion an infection. Am J. Sung 2002, 183 (2):179-90.
- 100.- Enciclopedia Práctica de Enfermería. Heridas, tomo 3. 312-314, Ed. Planeta. Barcelona, 1984.
- 101.-Falanga V. Mecanismos de reparación de las heridas cutáneas. En: Fitzpatrick TB, Freedberg

- IM, Eisen AZ et al. Dermatología en Medicina General. Buenos Aires: Panamericana. 2005. 275-6.
- 102.- Pozzilli P, Leslie RD. Infections and diabetes: mechanisms and prospects for prevention. Diabet Med 1994; 11(10): 935-41.
- 103.- Trailer M, Vowden K, Vowden P. Integrating adjunctive therapy into practice: the importance of recognising 'hard-to-heal' wounds. World Wide Wounds [revista en Internet]. 2006 diciembre. [acceso en febrero de 2010]; Disponible en: <http://www.worldwidewounds.com/2006/december/Troxler/Integrating-Adjunctive-Therapy-Into-Practice.html>
- 104.- Cohen SC, Gabelmick HL, Johnson RK. Effects of antineoplastic agents on wound healing in mice. Surgery. 1975; 78: 238.
- 105.- Troppmann C, Pierce JL, Gandhi MM, et al. Higher surgical wound complication rates with sirolimus immunosuppression after kidney transplantation: a matchedpair pilot study. Transplantation. 2003; 76(2): 426-29.
- 106.- Burns J, Pieper B. HIV/AIDS: impact on healing. Ostomy Wound Manage. 2000; 46(3): 30-44.
- 107.- Falcone RE, Nappi JF. Chemotherapy and

- wound healing. Surg Clin North Am. 1984; 64: 779.
- 108.- Arem A, Misiorowski P, Chvapil M. Effects of low-dose BAPN on wound healing. J Surg Res. 1979; 27: 228.
- 109.- Peacock EE Jr. Control of wound healing and scar formation in surgical patients. Arch Surg. 1981; 126:1325.
- 110.- Peacock EE Jr. Pharmacological control of surface scarring in human beings. Ann Surg. 1981; 193: 592.
- 111.- Suzie C. Hard – to – Heal rounds: A Holistich Approach. [monografía en internet]. London: European Wound Management Association; 2008 [acceso el 20 de Octubre de 2011]. Disponible en:
http://ewma.org/fileadmin/user_upload/EWMA/pdf/Position_Documents/2008/English_EWMA_Hard2Heal_2008.pdf
- 112.- Recalde JM. Tratamiento local de las úlceras por presión. Boletín Terapéutico Andaluz [revista en Internet] 2000 [consultado el 3 de Noviembre de 2011]; 16 (5). Disponible en <http://www.easp.es/web/documentos/BTA/00001271documento.pdf>

- 113.- Soldevilla JJ. Tratamiento tópico de las úlceras por presión. Bol Inf Farmacoter Navarra. 1999; 7(2): 9-13.
- 114.- Pittet D, Mourouga P, Pergener TV. En the Members of the Infection Control Program. Compliance with handwashing in a teaching hospital. Ann Intern Med 1999; 130: 126-130.
- 115.- Repáraz F, Arina P, Artajo P, Sánchez MT, Escobar E. Comisión de infecciones, higiene hospitalaria y política de antibióticos: funciones, actividades, responsabilidades del Hospital Virgen del Camino. Anales. 1997. Suplemento 2.
- 116.- Herruzo Cabrera R. Desinfectantes en el Hospital. Todo Hospital 1999; 160: 635-642.
- 117.- Moore ZEH, Cowman S. Limpieza de la herida en las úlceras de decúbito: (revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2007. [acceso 28 de Octubre de 2011]; (4). Disponible en:
<http://www.ulceras.net/publicaciones/Limpieza%20de%20la%20herida%20en%20las%20ulceras%20de%20decubito.pdf>
- 118.- Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas. Directrices Generales sobre Prevención de las

- Úlceras por Presión. [monografía en internet]. Logroño: GNEAUPP; 2003. [acceso 15 Diciembre 2011]. Disponible en: http://www.gneaupp.es/app/adm/documentos-guias/archivos/3_pdf.pdf
- 119.- Fernandez R, Griffiths R, Ussia C. Effectiveness of solutions, techniques and pressure in wound cleansing: A systematic review. JBI Reports. 2004; 2(7): 231-70
- 120.- Valente, JH, Forti RJ, Freundlich LF, Zandieh SO, Crain EF. "Wound irrigation in children: Saline solution or tap water?." Annals of emergency medicine. 2003; (41.5): 609-16.
- 121.- Soldevilla JJ. Las úlceras por presión en gerontología, dimensión epidemiológica, económica, ética y legal [tesis doctoral]. Santiago de Compostela: Servicio de publicaciones e intercambio científico, Universidad de Santiago de Compostela; 2007.
- 122.- Bennett G, Dealey C, Posnett J. The cost of pressure ulcers in the UK. Oxford Journals, Age and Ageing. 2003; 33(3): 230-35.
- 123.- Kammerlander G, Assadian O, Eberlein T, Zweitmuller P, Luchsinger S, Andriessen A. A clinical evaluation of the efficacy and safety of

- singlet oxygen in cleansing and disinfecting stagnating wounds. *J Wound Care*. 2011; 20(4):149-54.
- 124.- Atiyeh BS, Dibo SA, Hayek SN. Wound cleansing, topical antiseptics and wound healing. *Int Wound J*. 2009; 6(6): 420-30.
- 125.- Moore Z, Cowman S. A systematic review of wound cleansing for pressure ulcers. *J Clin Nurs*. 2008; 17(15): 1963-72.
- 126.- Gonzalez JA, Resua MR. Limpieza y descontaminación efectiva del lecho de la herida: reducción en los tiempos de cicatrización. *Rev Enferm*. 2008; (31): 20-1.
- 127.- Chang AC, Dearman B, Greenwood JE. A comparison of wound area measurement techniques: visitrak versus photography. *Eplasty*. 2011; (18); 11-8.
- 128.- Cukjati D, Reberšek S, Karba R, Miklavčič D. “Modelling of chronic wound healing dynamics”. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 2000; 38: 339-47.
- 129.- Cukjati D, Reberšek S, y Miklavčič D. “A reliable method of determining wound healing rate”. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 2001; 39: 263-71.

- 130.- Ximénez C, San Martín R. Análisis de Varianza con Medidas Repetidas: Cuadernos de Estadística. Madrid: La Muralla; 2000.
- 131.- Pinhero JC, Bates DM. Mixed-Effects Models in S and S-plus. New York: Springer-Verlang; 2000.
- 132.- Directiva relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. D 2010/63/UE. (22-09-2010).
- 133.- Ley 32/2007 para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. BOE nº 268. (08-11-2007).
- 134.- Decreto 117/1995, por el que se aprueba el Reglamento de la Ley 8/1991, de 30 de abril, de Protección de los Animales y se desarrollan otros aspectos relacionados con los mismos. BOC nº 062. (19-05-1995).
- 135.- Therese L. Doing Social Research. 2ª ed. USA: MacGraw-Hill; 1997.

