

# Estimulación de la circulación del Daño Tisular

Dr. Navarro Navarro, R.; Dr. Navarro García, R.; Dr. Rodríguez Álvarez J.P.; Dr. Martín García, F.; Dra. Romero Pérez, R.; Dr. Barroso Rosa, S.

## Introducción

La respuesta del tejido vivo constituye la base de cualquier práctica quirúrgica. Todo daño tisular provoca unas respuestas naturales del organismo frente a esta lesión encaminadas a la reconstrucción del tejido dañado. Éstas consisten en una serie de pasos de regeneración y remodelación denominados en su conjunto la "cascada de curación".

Los pasos se inician y controlan a través de proteínas bioactivas que se encuentran en plaquetas, plasma y glóbulos blancos (1).

Debemos entender que la reparación y la regeneración son conceptos distintos. La reparación de un tejido consiste en su restauración sin que éste conserve su arquitectura original ni su función. Ésta es una transformación que en general ocurre espontáneamente y el resultado es la cicatrización. Sus propiedades físicas y mecánicas son claramente inferiores a las del tejido original (2). Por tanto, lo que interesa no es reparar sino regenerar, esto implica reconstruir la forma de restaurar la función. Se entiende como regeneración la restauración de un tejido

con las propiedades indistinguibles del tejido original.

Se han descrito de forma detallada los mecanismos básicos responsables de la cascada de la cicatrización de las heridas. La cicatrización se puede dividir en varias fases (1), que podemos ver en la figura 1.

1. Hemostasia.
2. Inflamatoria.
3. Regenerativa/Proliferativa.
4. Remodelación tisular.

El proceso inflamatorio está mediado principalmente por las plaquetas, pero incluye la liberación de factores celulares responsables de la hemostasia y de la llegada de células a la herida. La fase inicial incluye la formación de fibrina a partir del fibrinógeno, mediada por trombina y calcio, y la formación de un coágulo organizado formado por plaquetas y hebras de fibrina con enlaces cruzados. La cascada de la coagulación controla la hemorragia en el espacio de la herida. Los mismos factores que activan la cascada de la coagulación también activan el sistema fibrinolítico, el cual modula el proceso de coagulación. El sistema de complemento

es activado de la misma forma, lo que resulta en formación de C5A, el cual es quimioatrayente para neutrófilos.

Además la activación de la cascada de las cininas permite la formación de potentes vasodilatadores que proveen de sangre y otros factores para la cicatrización en la herida (3).

Se han estudiado en profundidad los factores de crecimiento plaquetarios. Las plaquetas liberan una serie de citocinas, factores de crecimiento y proteínas proangiogénicas que dirigen el proceso de cicatrización e inician la cascada de la coagulación. Estas enzimas interactúan con el ambiente local, lo cual atrae diferentes células a la herida, incluyendo plaquetas, monocitos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y epiteliales. Los neutrófilos y fibroblastos dirigen la fase proliferativa de la cicatrización y con posterioridad reclutan fibroblastos, que son cruciales para la fase de remodelación de la cascada de cicatrización (1).

La fase inflamatoria comienza inmediatamente después de conseguirse la hemostasia y generalmente dura de 7 a 10 días. Se han iden-

Barrera hermostática	Inflamación	Regeneración tisular	Remodelación tisular	Cascada de la cicatrización normal
Estructura: · fibrinógeno pasa a fibrina · membrana plaquetaria activada	Señales: · leucocitarias · proteínas plaquetarias de señalización	Señales y estructura: · PGF · factores de crecimiento leucocitarios · moléculas de adhesión · matriz de fibrina · membrana plaquetaria		Respuesta del organismo a la lesión tisular (tiempo)

Figura 1

Cascada de cicatrización. Fuente: harvest Technologies

tificado diversos factores de crecimiento derivados de las plaquetas entre los que figuran los siguientes: PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas); EGF (factor de crecimiento epidérmico); TGF Beta (factor de crecimiento transformante beta); IGF (factor de crecimiento similar a la insulina); FGF (factor de crecimiento fibroblástico), de los que con posterioridad se hablará con mayor profundidad.

Estos factores también son esenciales en la fase angiogénica, en la que el ambiente de la herida estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos. A medida que la herida madura, se forma una matriz entre las fibras cruzadas de fibrina y plaquetas. A medida que otras células, como macrófagos, monocitos y neutrófilos son atraídas hacia la herida, se liberan factores de crecimiento adicionales. El ambiente de la herida es regulado por productos plaquetarios durante las primeras 24 horas de la herida y posteriormente por los monocitos, que se convierten en macrófagos de la herida, influenciando condiciones en ésta hasta que cicatriza. Las plaquetas y subsecuentemente los macrófagos, liberan factores de crecimiento en la herida (3).

A medida que la herida continúa el proceso de maduración, se inicia la epitelización debido a la atracción de células madre desde los bordes de la herida hacia el lecho de la misma. Estos precursores de los queratinocitos y de los fibroblastos migran debido a un complejo proceso que implica la acción de citocinas, metaloproteinasas y sustancias propias del tejido conjuntivo como fibronectina y colágeno. Esta fase se denomina en clínica fase de formación de la cicatriz.

En la fase de remodelación (maduración) de la cicatriz, el colágeno madura y se remodela debido a una compleja interacción de las colagenasas y otra metaloproteinasas. El proceso de recambio del colágeno también está regulado por la miríada de factores de crecimiento liberados por las plaquetas y los macrófagos.

En el abordaje de una lesión traumática o de una reconstrucción quirúrgica de un tejido dañado puede ser de interés la amplificación de la respuesta fisiológica que lleva a la regeneración del tejido. Para ello se han desarrollado diferentes productos biológicos y sintéticos que conducen a la aceleración del proceso. Esta aplicación se conoce como ingeniería tisular (4-7).

La generación, remodelación y proliferación celular requieren una combinación de:

1. Material de relleno (estructura o matriz).
2. Células no diferenciadas.
3. Proteínas señal.

En la mayoría de las lesiones se producen, además, defectos en la matriz extracelular del tejido dañado, por lo que es útil apoyar el efecto terapéutico con el aporte de materiales sintéticos o biológicos que produzcan un efecto de relleno de las zonas perdidas (8). Entre los materiales sintéticos se encuentran los cianoacrilatos, aplicados como sutura química en heridas cutáneas, o estructuras porosas implantadas en o adyacentes al hueso, que sirvan de conductores de la regeneración en las fracturas (estructuras tridimensionales de sulfato cálcico, colágeno y derivados sintéticos como polímeros, cristales bioactivos y diferentes metales). Estos materiales colocados en el lugar de la lesión ejercen efectos de conducción o guía para la regeneración que se efectúa desde los bordes sanos de las heridas. Pero aparte del efecto conductivo, se puede actuar de forma inductiva mediante la administración de agentes biológicos que mimeticen las fases biológicas de la reconstitución tisular (9-11).

Estos factores son en general proteínas pequeñas con actividad biológica que actúan reclutando células progenitoras del tejido lesionado, o células productoras de la matriz extracelular, mediante procesos de señalización celular. Además del efecto quimiotáctico,

estos factores ejercen efectos de proliferación y diferenciación de las células progenitoras de diferentes vías de diferenciación. En la regeneración de los diferentes tejidos del aparato locomotor ejercen un papel primordial las citoquinas y factores de crecimiento liberados por las plaquetas, además de proteínas se pueden administrar como fármacos, aplicándolos directamente sobre la lesión o de forma sistémica.

Pero las dificultades de mantener activos a los factores (actúan de forma paracrina y son degradados rápidamente en el cuerpo por las proteasas naturales) en el sitio de la lesión y el elevado coste de la producción farmacéutica de productos ha hecho desarrollar con fuerza otras estrategias (12). Entre ellas la producción de geles de plaquetas ricos en factores de crecimiento antólogo, entre los que se encuentra el PRP o plasma rico en plaquetas (13,14).

El aumento de la concentración de proteínas bioactivas actúa como catalizador para la aceleración del proceso de curación de la herida y constituye la base de la ingeniería tisular. El uso del PRP disminuye la duración de la fase de barrera (1), inflamación (2) y regeneración (3), mientras que la fase de remodelación tisular (4) permanece intacta. De esta manera provoca una curación más rápida y con menor inflamación de los tejidos (figura 2).

La estrategia se basa en promover mediante biosustancias artificiales o naturales la migración, proliferación y diferenciación de las células. Existen grandes parecidos entre los mecanismos de la embriogénesis y de reparación, y en ambos las células precursoras, los factores de crecimiento y las BMPs juegan un papel muy importante.

### **La regeneración en el tejido óseo**

La regeneración en la práctica clínica se está convirtiendo en una realidad. Un requisito para la regeneración es el potencial de división de las células. Las células se clasifi-

Barrera hermostática	Inflamación	Regeneración tisular	Remodelación tisular	Cascada de la cicatrización normal
<p>Estructura:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· fibrinógeno pasa a fibrina</li> <li>· membrana plaquetaria activada</li> </ul>	<p>Señales:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· leucocitarias</li> <li>· proteínas plaquetarias de señalización</li> </ul>	<p>Señales y estructura:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· PGF</li> <li>· factores de crecimiento leucocitarios</li> <li>· moléculas de adhesión</li> <li>· matriz de fibrina</li> <li>· membrana plaquetaria</li> </ul>	<p>Respuesta del organismo a la lesión tisular (tiempo)</p>	

**Figura 2**

Efecto del PRP en la cascada de cicatrización.. Fuente: harvest Technologies

can en lábiles, estables y permanentes, basándose en su capacidad para dividirse. Por lo tanto, no todas las poblaciones de células diferenciadas están sujetas a regeneración y renovación. Las células permanentes si se pierden no pueden ser sustituidas, tienen una vida larga y por eso viven en entornos protegidos, es el caso de la mayoría de las células nerviosas (2).

Sin embargo, la mayoría de las poblaciones de células diferenciadas no son permanentes sino que se renuevan. Las nuevas células se pueden originar de dos formas: por duplicación sencilla de las células preexistentes que se dividen originando células hijas del mismo tipo (como es el caso del hígado) o bien se pueden generar a partir de células madre no diferenciadas por un proceso de diferenciación que implica un cambio en el fenotipo celular.

Las proporciones de la renovación varían de un tejido a otro, el tiempo de renovación puede ser tan corto como una semana o tan largo como un año (como ocurre en el caso del páncreas).

Muchos tejidos cuya cinética de renovación es muy lenta se pueden estimular para que produzcan nuevas células a más velocidad cuando exista la necesidad, por ejemplo las células del hígado o las células endoteliales de los vasos sanguíneos se renuevan por duplicación, el recambio celular de ambos es muy lento pero se pueden regenerar rá-

pidamente cuando sufren un daño. La propia pérdida celular estimula la proliferación por un mecanismo homeostático.

Las nuevas células endoteliales se generan por duplicación de las preexistentes. Los nuevos capilares se forman por gemación (angiogénesis). El crecimiento de la red capilar está controlado por los factores liberados por los tejidos de alrededor. La médula ósea es una fuente de células precursoras con capacidad para diferenciarse en distintos tipos de células, osteoblastos, condroblastos, mioblastos, etc. En la actualidad se está investigando acerca de las condiciones necesarias para la diferenciación de los distintos grupos celulares (2).

El tejido óseo es un sistema dinámico que mantiene su estructura gracias a un equilibrio entre actividades opuestas. Las células que forman el hueso están implicadas en procesos continuos de remodelación: por un lado los osteoblastos reabsorben el hueso viejo mientras que los osteoblastos depositan nueva matriz ósea.

Estas células osteoprogenitoras trabajan cooperativamente y son las responsables de la remodelación normal del hueso. Cuando se descompensa este proceso de renovación se acelera la reabsorción del hueso y se descompensa frente a la formación de hueso nuevo. Nos encontramos en este caso con enfermedades como la osteoporosis, enfermedad periodontal, etc.

Tanto el hueso cortical como el trabecular se remodelan constantemente mediante un ciclo específico de actividad celular. La suma de procesos asociados con la remodelación homeostática se conocen como activación, absorción y formación. Los osteoblastos se activan mediante factores de señalización y desocupan una zona de hueso; los osteoclastos son estimulados, se instalan en la zona que han dejado libre los osteoblastos, se unen, se reabsorben, y en respuesta a señales aún sin identificar, cesan la reabsorción y se liberan.

La formación de hueso por los osteoblastos se da en la zona que ha sido absorbida por los osteoclastos; las lagunas de absorción osteoclástica (lagunas de Howship) se repueblan por un contingente de osteoblastos que fabrica osteoide o hueso joven, el cual calcifica, quedando restaurado así el hueso. El grupo de células responsables de este proceso dinámico se conoce como unidad básica multicelular o unidad de modelado óseo CUMA y la cantidad de hueso formado por una unidad básica multicelular es la unidad básica estructural (2).

Esta unidad de actividad funcional se describe como "cutting cone" (cono de corte). Un cono de corte típico en hueso cortical implica la eliminación del hueso por los osteoclastos seguida de la deposición del hueso por parte de los osteoblastos. La velocidad del cono de corte a través del hueso cortical

puede ser de 1 a 2 micras por día, dependiendo de la localización y de la especie. En circunstancias normales el proceso de reabsorción y formación están estrechamente acoplados y el resultado es que no hay cambio en la masa ósea. (2).

El esqueleto del adulto contiene aproximadamente 35 millones de unidades básicas estructurales, una por cada unidad básica multicelular o de modelado óseo, se regenera casi completamente cada 10 años. En el adulto se inician 3-4 millones de unidades de modelado al año. La proporción de sustitución ósea es de 0,027% al día o una unidad de modelado nueva cada siete segundos. Existen variaciones dependiendo de la zona que se trate. Las regiones que contienen médula amarilla pueden renovarse cada 20 años, mientras que el hueso cortical del ilion que contiene médula hematopoiética. Se renueva en intervalos de tres años.

A pesar de que continuamente se renuevan millones de pequeñas unidades, la masa ósea del adulto está preservada gracias al equilibrio existente entre la proporción de hueso reabsorbido y hueso formado en cada ciclo de remodelación (2).

El tejido óseo está formado por tres componentes fundamentales: las células, la matriz extra celular insoluble y las moléculas solubles que sirven como reguladores de la función celular, y que la mayoría son proteínas. Utilizando estos tres componentes del tejido se pueden desarrollar estrategias para la regeneración "in Vitro" y en vivo (figura 3).

En los tejidos no vascularizados con baja actividad mitótica no puede haber reparación de los defectos. Por ejemplo, la rotura de la porción no vascularizada del menisco de la rodilla; esto se debe en parte a que no se forma coágulo de fibrina, que funciona como matriz inicial en la cual las células precursoras pueden migrar, y se pueden anclar a ella para que tengan lugar procesos celulares como la división y la fabricación de matriz extracelular. Si se aplica una fuerza mecá-

nica que produzca la rotura del coágulo inicial el proceso de reparación queda abortado.

Existen tres mecanismos relacionados con el éxito en la regeneración ósea, estos mecanismos son la osteogénesis, la osteoinducción y la osteoconducción. Todos los materiales que se utilizan en los injertos poseen al menos uno de estos tres mecanismos de acción.

1. Osteogénesis es el proceso de formación y desarrollo de hueso nuevo. Un material osteogénico se deriva o bien está formado por tejido implicado en el crecimiento y reparación, ejemplo el hueso antólogo. Las células osteogénicas pueden promover el crecimiento óseo, incluso en otros tejidos.
2. Osteoinducción es el proceso de estimulación de la osteogénesis. Los materiales osteoinductivos se pueden utilizar para mejorar la regeneración ósea, y el hueso puede crecer o extenderse por una zona donde normalmente no se encuentra. La regeneración ósea es
  3. estimulada por la liberación de proteínas inductivas que facilitan la diferenciación celular. Urist (15) mostró que el hueso desmineralizado en ácido clorhídrico, liofilizado e implantado en lugares ectópicos, inducía la forma-

ción ósea. Este fenómeno se ha denominado principio de inducción ósea.

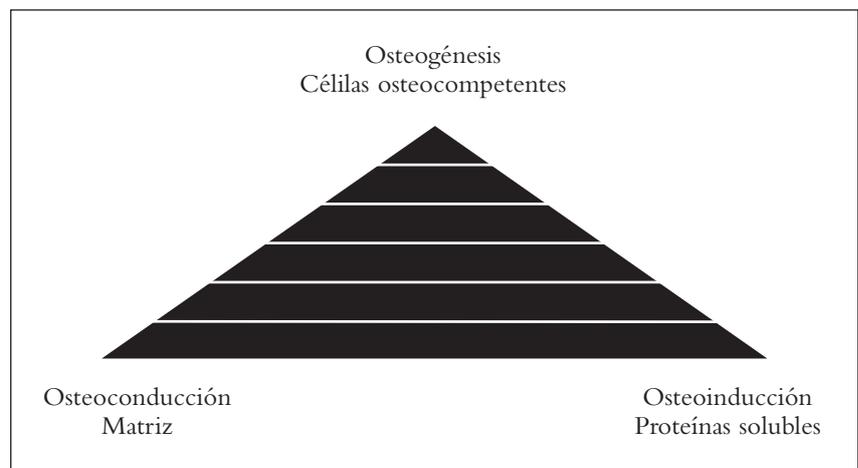
Ejemplo de materiales osteoinductivos:

- Hueso antólogo, en la fase de reabsorción libera proteínas morfogenéticas (BMPs).
- P.R.P. (plasma rico en plaquetas): libera factores de crecimiento (GFs) que estimulan la quimiotaxis, la diferenciación y proliferación celular.
- Proteínas morfogenéticas óseas (BMPs).

4. Osteoconducción. Proporciona la estructura o matriz física apropiada para la deposición de hueso nuevo. Los materiales osteoconductivos son guías para el crecimiento óseo y permiten que se deposite hueso nuevo. El proceso de reparación ósea se produce a partir de células osteoprogenitoras del propio huésped. Se crea una estructura para que se pueda formar hueso por sustitución progresiva. La reabsorción será lenta (dependiendo Gel biomaterial y del lecho receptor) y progresiva.

Dentro de los materiales osteoconductivos tenemos:

1. Hueso antólogo, además de ser osteogénico y osteoinductor es también osteoconductor.



**Figura 3**  
Regeneración Ósea

los tres pilares de la regeneración ósea. Mediante la combinación de estos tres elementos, en el entorno apropiado, se obtiene regeneración. A estos tres elementos debemos añadir unos factores locales que influyen, como son el entorno mecánico y vascular.

2. Fibrina autóloga (P.R.P.).
3. Hidroxiapatita reabsorbible (Bio-Oss) ®.
4. Sulfato de calcio (Bone-Mousse, Tipo I) ®.
5. Fosfato tricálcico (Bone-Mousse, Tipo II) ®.
6. Fibrina liofilizada (Tisucol) ®.
7. Hueso desmineralizado (DFDBA).
8. Cristales cerámicos bioactivos. Las nuevas superficies osteoconductoras de los implantes.

Para poder favorecer la formación de hueso nuevo a través de su superficie, un injerto osteoconductor necesita que exista hueso previamente, o bien células mesenquimatosas diferenciadas. Todos los materiales utilizados para la reparación poseen al menos uno de estos tres mecanismos de acción y es el hueso autólogo el único que posee los tres.

Dentro de los procesos regenerativos hay dos técnicas que debemos mencionar aunque ya son por todos conocidas, y son: la regeneración tisular guiada y la osteodistracción.

**Regeneración tisular guiada** (osteopromoción): Es un concepto que se ha incorporado a los procesos

reparativos esta última década. Se define como la capacidad de inducir la formación ósea mediante la utilización de barreras, a este proceso se le denomina regeneración tisular guiada. El mecanismo no es otro que crear una barrera física para que la revascularización del defecto provenga del lecho receptor e impida la llegada de capilares del conectiva de zonas adyacentes. Esto mejora notablemente la epitelización por encima de la barrera. Las barreras pueden ser diferentes materiales y formas. Dependiendo del defecto a tratar estarán indicadas unas u otras. Las más conocidas son:

#### Barreras No Reabsorbibles

- PTFE politetrafluoretileno expandido (Gore-tex) ®.
- PTFE con refuerzo de titanio.
- NPTEF politetrafluoretileno expandido de alta densidad con poros nomométricos (Teflón) ®.
- Micromallas y membranas de titanio, vanadio, etc.

#### Barreras Reabsorbibles

- Hueso cortical desmineralizado (Lambone) ®.

- Colágeno (Bio-Gide) ®.
- Poliglactina 910 (Vicryl) ®.
- Polímeros láctico y glicólico puros (Resolut) ®.
- Sulfato cálcico mezclado con P.R.P. (Bone-Mousse, tipo I) ®.
- Sulfato tricálcico mezclado con P.R.P. (Bone-Mousse, tipo II) ®.

Se ha podido comprobar que la utilización de membranas de Goretex ® así como de colágeno y también la utilización de fibrina autóloga reduce la reabsorción que tiene lugar la remodelación del injerto.

- Osteodistracción. Su filosofía no es otra que, provocando una fractura, ir separando los dos fragmentos con unos instrumentos que se denominan osteodistractores. La finalidad es separar las dos partes, estirando el coágulo de fibrina que se forma entre ellos, para crear un puente óseo entre ambos fragmentos. Lo fundamental es que los dos extremos de la fractura estén estables para que no se rompa ese puente de fibrina y futuro puente óseo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Kirsner RS, Eaglstein WH. The wound healing process. *Dermatologic clinics*. 1993 Oct;11(4):629-40.
2. Anita Aldecoa E, Andía Ortiz I. un nuevo enfoque en la regeneración ósea. Plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Vitoria: puesta al día publicaciones S.L. 2000.
3. Escotto Sánchez I, Rodríguez Trejo J, Padilla Sánchez L, Rodríguez Ramírez N. Factores de crecimiento en el tratamiento de úlceras en pacientes diabéticos. Mitos y realidades. *Rev Mex Angiol*. 2001;29(3):75-82.
4. Kellner K, Schulz MB, Gopferich A, Blunk T. Insulin in tissue engineering of cartilage: a potential model system for growth factor application. *Journal of drug targeting*. 2001;9(6):439-48.
5. Elisseff J, McIntosh W, Fu K, Blunk BT, Langer R. Controlled-release of IGF-I and TGF-beta1 in a photopolymerizing hydrogel for cartilage tissue engineering. *J Orthop Res*. 2001 Nov;19(6):1098-104.
6. Parish S. Bone graft substitutes: Past, present, future. *J Postgraduate Med*. 2002;48:142-48.
7. Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C, Gestrelis S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *Journal of clinical periodontology*. 2001 Feb;28(2):181-8.
8. Schaliephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2002;31:469-84.
9. Lowery GL, Lulkarni S, Pennisi AE. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone*. 1999 Aug;25(2 Suppl):47S-50S.
10. Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg*. 2002 Feb;18(1):27-33.
11. Miyazono K, Takaku F. Platelet-derived growth factors. *Blood reviews*. 1989 Dec;3(4):269-76.
12. Urist M. Bone formation by autoinduction. *Science*. 1965;150:893.