

Injertos de piel fetal sobre superficies cruentas en el recién nacido*

V. Juliá¹, M.A. Sancho¹, A. Martínez², A. Albert¹, L. Morales¹

¹Servicio de Cirugía Pediátrica, Unidad Integrada, Hospital Clínic-Sant Joan de Déu.

²Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic, Universidad de Barcelona.

RESUMEN: Los aloinjertos de piel tienen un efecto beneficioso en la curación de las heridas por segunda intención, aunque es sabido que no prenden.

Las especiales características del proceso de cicatrización en el feto hacen suponer que los aloinjertos de piel fetal pueden ser una buena alternativa a los de piel adulta y, en algunos casos, a los autoinjertos.

Utilizando el conejo como animal de experimentación, se han realizado 26 aloinjertos de piel fetal a feto y recién nacido y 21 aloinjertos de piel de recién nacido a recién nacido. Se compara el aspecto macroscópico y microscópico que presentan a los 7, 14 y 21 días del injerto.

Los injertos cutáneos no prenden, sin embargo, la respuesta del neonato ha sido distinta según el injerto sea de piel fetal o de recién nacido. Con piel fetal muestran un aumento más rápido de la vascularización en el lecho del injerto, menos edema y una menor reacción a cuerpo extraño.

PALABRAS CLAVE: Cicatrización herida; Feto; Injerto; Recién nacido; Cirugía experimental.

FETAL SKIN ALLOGRAFTS ON NEWBORN EXCISIONAL WOUNDS

ABSTRACT: There is clinical and experimental evidence that skin allografts improve secondary intention wound healing, however the grafts do not take. Because of the special characteristics of the healing process in the fetal period, fetal skin allografts could be presumed to be a good alternative to adult skin allografts, and even to autografts in particular cases.

In order to explore the behavior of fetal skin grafts on newborn animals, skin has been grafted to laboratory rabbits of two different ages: 26 fetal skin allografts to fetuses and newborns and 21 neonatal skin allografts to newborns. Macroscopic and microscopic features of the grafted area have been compared at the 7th, 14th and 21st postoperative days. The newborn response to a fetal skin graft was somewhat different from that to a newborn skin allograft, the first showing an earlier

increase in graft bed vascularization, less edema and less foreign body reaction.

KEY WORDS: Wound healing; Fetus; Skin graft; Newborn; Experimental surgery.

INTRODUCCIÓN

En numerosos trabajos se ha comprobado que la cicatrización en el período fetal es diferente a la que ocurre en el período postnatal. Las heridas suturadas en el feto curan más por regeneración que por fibrosis. Estas diferencias se han verificado en diversos modelos animales entre ellos el feto de conejo, así como en el feto humano⁽¹⁻⁶⁾.

Los recién nacidos y lactantes con una gran superficie cruenta podrían beneficiarse de este tipo de cicatrización fetal. Aunque es sabido que los aloinjertos de piel no prenden, la presencia de diferentes factores en la piel fetal, podría mejorar la curación de las heridas^(7, 8). El feto podría ser un buen donante de piel por tener menor capacidad antigénica y por cicatrizar con escasa fibrosis⁽⁹⁾.

Hasta ahora no se ha utilizado la piel fetal en injertos postnatales. El objetivo de este trabajo es analizar el comportamiento de los injertos de piel fetal en el recién nacido en un modelo animal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Grupos de estudio

Se han utilizado recién nacidos y fetos de conejo de raza blanca neozolandés. Se les ha practicado a todos una herida en sacabocados de piel total. Los animales se han distribuido en cuatro grupos:

- Grupo NF: neonatos, con heridas cubiertas con aloinjertos de piel fetal.

Correspondencia: Victoria Juliá, Servicio de Cirugía Pediátrica, Hospital Sant Joan de Déu, Passeig Sant Joan de Déu, 2, 08950 Esplugues, Barcelona.

*Trabajo realizado con la ayuda de la Beca núm. 99/0639 del Fondo de Investigaciones Sanitarias. Trabajo presentado en el XXXVIII Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Pediátrica.

Recibido: Noviembre 2001

Aceptado: Diciembre 2001

Tabla I Método de valoración semicuantitativo

Parámetros	0	+	++	+++
Inflamación	Nula	< 5 céls/campo	5-10 céls/campo	> 10 céls/campo
Edema	Nulo	Interfolicular Celular	Espongiosis injerto Moderada	Vesícula Acelular
Fibrosis	Nula	(fibroblastos redondeados) Pequeños	(céls fibroblásticas de aspecto maduro) Proliferación	(cicatriz con colágeno) Proliferación
Vascularización	Nula	capilares dispersos	pequeños capilares	glomeruloide
Folículos ¹	No	< 3	3-4	> 4
Grosor injerto ²	Excluido	1-2 capas céls	2-3 capas céls	> 3 capas céls

¹Número de folículos pilosos por campo a 40x.
²Número de células alineadas, incluyendo las basales, en un corte perpendicular a la superficie en zona interfolicular.

- Grupo NN: neonatos, con heridas cubiertas con aloinjerto de piel de recién nacido.
- Grupo FF: fetos, con heridas cubiertas con aloinjertos de piel fetal.
- Grupo N: neonatos, con heridas que no se injertaron.

Animales

Se han utilizado 19 neonatos de 5 días de vida que se injertaron con piel fetal (grupo NF). Trece de estos animales fueron sacrificados a los 7 días y seis a los 14 días.

Otros 21 neonatos de 5 días de vida recibieron un aloinjerto de recién nacido (grupo NN). Once de estos animales fueron estudiados a los 7 días, seis a los 14 días y cuatro a los 21 días.

El grupo FF lo proporcionan 4 conejas gestantes que se intervinieron en el día 23 (gestación completa 31 días). En cada una de estas conejas se intervinieron 3 fetos y se obtuvieron siete fetos vivos a los 7 días.

El grupo N se formó con 7 neonatos de 5 días de vida que no se injertaron.

Técnica para realizar los injertos fetales

Las conejas gestantes se premedicaron con ketamina 20 mg/kg y clorpromacina 2,5 mg/kg, por vía intramuscular, junto con cefazolina 100 mg/kg y medroxiprogesterona 0,1 mg/kg, para disminuir las contradicciones uterinas.

En quirófano estéril se administró suero fisiológico vía endovenosa y anestesia inhalatoria de halotano entre el 2% y el 4% en oxígeno con mascarilla en respiración espontánea. A través de una laparotomía media se expuso el extremo de un cuerno uterino, por palpación se determinó la porción caudal del feto y se practicó sobre ella una histerotomía. Se exteriorizó el feto y en el dorso del mismo se realizó una heri-

da circular en sacabocados de un diámetro de 7 mm de todo el espesor de la piel. La piel extirpada puede ser fácilmente despegada del plano músculo-aponeurótico, del cual se diferencia bien, y se guardó en suero fisiológico (menos de 30 minutos) para ser usada como injerto.

Estas heridas se cubrieron con piel de otro feto (grupo FF). Los injertos se suturaron con puntos de material no reabsorbible de 6/0.

Técnica en recién nacidos

A los recién nacidos se les administró un anestésico local (mepivacaína) en la región dorsal. Se les practicó una herida, igual a la realizada a los fetos, que se injertó con piel de un feto (grupo NF), de otro recién nacido (grupo NN), o se dejaron descubiertas (grupo N). Todos los injertos se suturaron con material no reabsorbible de 6/0. En el grupo NF el injerto se marcó con tinta china antes de colocarlo.

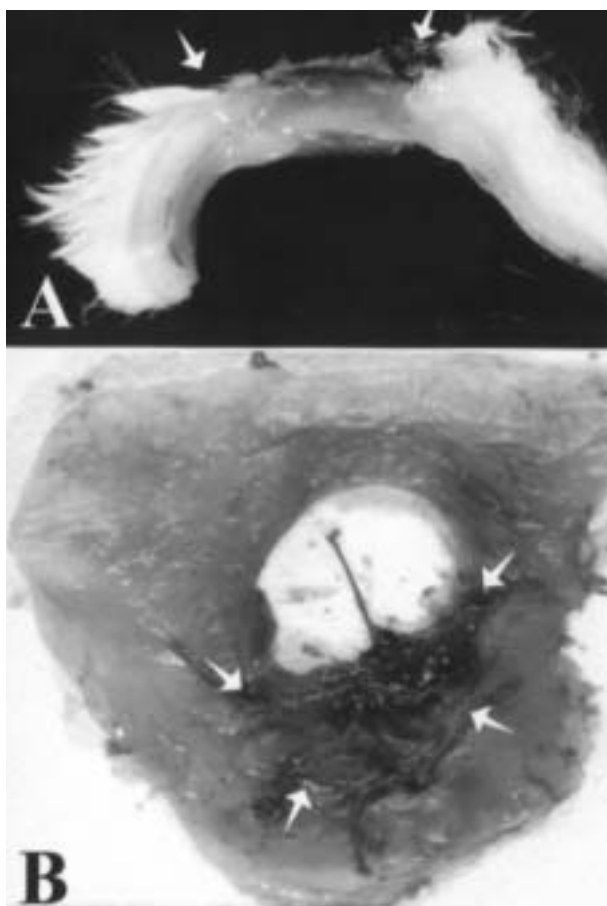
Recogida de muestras

A los siete días de la intervención (día 30 de la gestación), se anestesiaron las conejas y se recogieron los fetos vivos intervenidos. Se midieron los injertos y la superficie cruenta y se anotó el aspecto macroscópico que tenía el injerto. Después de sacrificar el animal, se recortó una sección de piel que incluía esta lesión. Las piezas se fijaron en formol al 4% y el estudio histológico se llevó a cabo en cortes de 4 µ de tejido incluido en parafina. Los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina y Tricrómico de Masson.

Se valoró: la presencia de edema, infiltrado inflamatorio, fibrosis y vascularización en un estudio semicuantitativo tanto en el injerto como en la piel del receptor (Tabla I). La zona del injerto marcada con tinta china en el momento operatorio fue fá-

Tabla II Aspecto microscópico de los injertos de piel

Días	Grupos	Fibrosis	Inflamación	Vascularización	Folículos / campo	Edema
7	NF	++	++	+++	0	++
7	NN	++	++	+	+	+++
7	FF	0	0	+	0	0
14	NF	++	+	+	+	+
14	NN	+++	+	+++	+	++



Figuras 1A y 1B. A: Sección de un aloinjerto de piel fetal (flechas) en recién nacido a los 7 días de postoperatorio. La herida está cicatrizada por tejido fibroso y parcialmente cubierta por costra. B: Aspecto macroscópico de un aloinjerto de piel fetal en feto. El injerto cubre parcialmente la herida (flechas).

cil de reconocer en el estudio histológico. Se estudió el grosor de la piel del injerto y la presencia y número de folículos pilosos.

Los recién nacidos (grupos NF, NN y N) fueron recogidos y procesados de la misma manera. Este estudio ha seguido las normas aprobadas para animales de laboratorio de la Comunidad Europea.

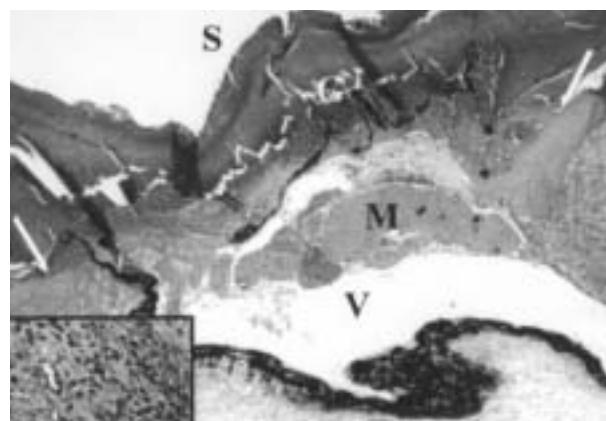


Figura 2. Aloinjerto de piel fetal (G) entre flechas en recién nacido a los 7 días de postoperatorio. Se observa necrosis de la capa muscular (M), y la vesícula (V) teñida con tinta china. El injerto es rechazado hacia la superficie y cubierto por costra (S) (H/Ex200). Ampliación: intensa reacción fibrohistiocítica alrededor de los vasos sanguíneos (H/Ex400).

RESULTADOS

No hubo mortalidad materna. La mortalidad en el grupo fetal fue del 42%. Ninguno de los recién nacidos murió.

Estudio macroscópico

En los grupos NF y NN el injerto cubría por completo la lesión, la cual no había aumentado de tamaño a los 7 días de la operación. Las suturas fueron identificadas uniendo correctamente el injerto a la piel del receptor. La superficie del injerto tenía aspecto de costra en los grupos NF (Fig. 1A) y NN. En el día 14 de postoperatorio la costra se desprendía fácilmente y por debajo de ésta, la lesión estaba epitelizada.

En el grupo FF la lesión que inicialmente era de 7 mm, medía a los siete días un promedio de 13 mm de diámetro (entre 8 y 18 mm). El injerto se encontraba unido a la piel del receptor solamente por un segmento de su circunferencia. Los bordes de la herida eran limpios, libres de detritus y sin costra (Fig. 1B).

En el grupo N la lesión inicial de 7 mm medía a los 7 días de postoperatorio 10 mm de diámetro (entre 8-13 mm).

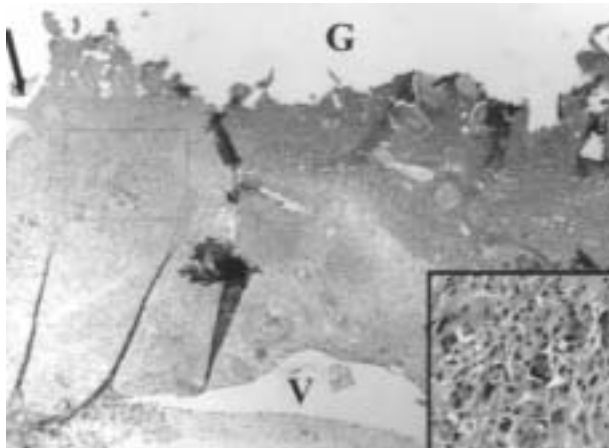


Figura 3. Aloinjerto de recién nacido en neonato a los 7 días de postoperatorio. El injerto está ulcerado y se observa en los márgenes una intensa fibrosis (flechas). Hay una vesícula (V) (H/Ex200). Hay un importante infiltrado inflamatorio con células gigantes (ampliación) (H/Ex400).

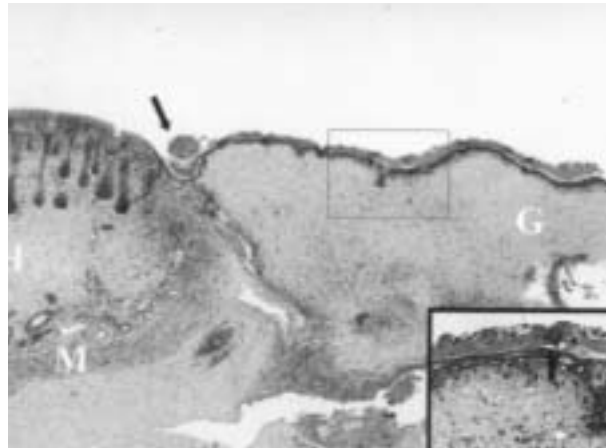


Figura 4. Aloinjerto de piel fetal en feto a los 7 días de postoperatorio. Las flechas marcan la unión entre huésped (H) e injerto (G). M: capa muscular del huésped (H/Ex200). Ampliación: diferenciación foliolar focal y escasas células granulares (H/Ex400).

Estudio microscópico

La piel de conejo comprende en su zona más profunda una fina capa de fibras musculares lisas, como ocurre en otras especies peludas, no así en el humano.

La piel del feto de 23 días de gestación es un epitelio escamoso estratificado con una prominente capa basal y dos o tres capas de queratinocitos con escasas células granulares y sin queratinización. Se observan folículos pilosos primordiales con formaciones mesenquimales bulbosas recubiertas por un epitelio germinativo tipo basal. El espacio subepidérmico está pobremente desarrollado y ocasionalmente tiene pequeños capilares.

La piel de recién nacido que se utiliza como injerto es una piel totalmente desarrollada, de 4 a 8 células de espesor y con diferenciación pilosa completa.

En el grupo NF se objetivó diferentes grados de necrosis epidérmica, con ulceración central del injerto en 3 de ellos, e infiltración por células polimorfonucleares en especial eosinófilos. Cuando el injerto se observó a los 7 días posttrasplante se apreció la necrosis del tejido fibromuscular del injerto, apareciendo de forma constante un espacio quístico seroso claro delimitado por los límites de la herida quirúrgica, que es bien visible gracias a la tinta china (Fig. 2). En los márgenes del injerto hay una proliferación de pequeños vasos glomerulares y colágeno visible con la tinción de Tricrómico con abundantes fibroblastos. Desde la piel del receptor se observan lengüetas de epitelio en el injerto con intensa actividad mitótica de las células de la capa basal.

A los 14 días posttrasplante, la zona del injerto estaba casi completamente recubierta por un nuevo epitelio escamoso estratificado con un grosor dos o tres veces superior que el del receptor. El número de folículos es nulo o muy escaso. Bajo este nuevo epitelio se observó una cicatriz con fibrosis

compuesta de fibroblastos maduros y abundantes fibras colágenas, que reemplazan el espacio subepidérmico.

En el grupo NN se observó un infiltrado linfoplasmocitario en todos los casos y células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño con reacción histiocítica granulomatosa. A los 7 días posttrasplante se comprobó una necrosis progresiva de la capa muscular del injerto y la aparición de una vesícula en su lecho tal como se vio en el grupo NF. Solamente una línea fina en la parte más superficial señala la necrosis del epitelio (Fig. 3).

A los 14 días post-injerto hay un tejido fibrótico, que reemplaza a la vesícula, el cual se va haciendo más denso hasta formar una cicatriz fibrosa el día 21.

En el grupo FF no se observó inflamación, fibrosis ni edema. Solamente en algún caso se vieron en el injerto folículos pilosos aislados y cierta queratinización (Fig. 4).

En la tabla II se resumen los resultados microscópicos de los grupos que recibieron injertos (NF, NN y FF).

En el grupo N las heridas mostraron un extenso infiltrado de células polimorfonucleares y tejido de granulación. Había un esbozo de reepitelización avanzando desde los bordes de la herida con destrucción de los folículos pilosos a los 7 días.

DISCUSION

La cicatrización de las heridas es un proceso complejo y en cadena en el que influyen múltiples factores pero básicamente diferente si se trata de una herida abierta o cerrada.

El autoinjerto es el tratamiento de elección en aquellas heridas que no se pueden cerrar; el aloinjerto es una opción cuando este tratamiento no es posible.

Los aloinjertos se utilizaron en humanos en el siglo pasado y fueron abandonados porque no prendían. Muchos años después se volvieron a utilizar en dos niños con quemaduras extensas y se observó que aunque no prendían, la superficie cubierta cicatrizaba más rápidamente⁽¹⁰⁾.

Actualmente los aloinjertos se utilizan en algunos centros especializados en el tratamiento de quemados graves o con extensas pérdidas de tejido, porque son un buen apósito biológico para cubrir una extensa superficie cruenta.

Los aloinjertos es posible que tengan un efecto barrera de disminuir el número de bacterias, y un efecto estimulador de la vascularización. También podrían aportar diferentes sustancias que favorecerían la síntesis por parte del receptor^(11, 12).

Este trabajo estudia el comportamiento de la piel fetal como aloinjerto. Hemos injertado piel fetal en neonatos como alternativa a los autoinjertos ya que en esta edad la falta de revestimiento cutáneo es especialmente grave (pérdida de agua, electrolitos, proteínas, calorías, y riesgo de infección). La piel fetal podría ser mejor aloinjerto para el neonato y lactante por las especiales características del feto (pobre respuesta inflamatoria e inmunológica) y las especiales características de su piel (cicatrización rápida y escasa fibrosis)⁽⁹⁾.

Lorenz y cols.^(2, 13) demostraron que este tipo especial de cicatrización ocurre también cuando la piel fetal es implantada en el adulto, con un mejor resultado estético y menos retracción.

En nuestro estudio, entre los recién nacidos injertados con piel fetal (NF) y los injertados con piel de neonato (grupo NN) no hay diferencias macroscópicas a los 7 días. A los 14 y 21 días las heridas están cubiertas por una costra debajo de la cual la herida ha cicatrizado en ambos. Microscópicamente las heridas neonatales cubiertas con injertos de piel fetal cicatrizan formando tejido desde los bordes de la lesión del receptor, mediante un patrón tipo adulto, con depósito de colágeno y fibrosis. El injerto, necrosado, es rechazado hacia la superficie de la herida. El edema es menor, no hay células gigantes de reacción a cuerpo extraño y el aumento de vascularización es más precoz que en los aloinjertos de piel neonatal. El injerto de piel fetal da lugar a una costra más fina que se desprende más fácilmente y debajo de la cual la cicatrización alcanza más rápidamente el grosor de la piel normal del recién nacido.

La piel fetal podría proveer diversos factores los cuales favorecerían la rapidez de la cicatrización. La matriz extracelular fetal es más rica en ácido hialurónico, fibronectina y laminina que la matriz del adulto^(7, 14-16), y tiene más proteína, en particular más metaloproteínasa, todo lo cual favorece una más rápida remodelación de la matriz extracelular y un turnover más rápido entre ésta y el colágeno⁽¹⁷⁾. Las fibras de colágeno en la dermis son más finas y menos densas en el feto que en el adulto por lo que la cicatrización es más rápida y con menos fibrosis^(16, 18).

El factor de crecimiento TGF- β se encuentra en la piel adulta pero no en la piel fetal y la fibrosis de la cicatriz en los

injertos fetales tratados con TGF- β depende de la dosis de este factor^(19, 20). Así pues, los tejidos fetales parecen ser un implante biológicamente superior.

La investigación sobre los injertos de piel fetal podría determinar los diferentes factores implicados en la cicatrización con una menor fibrosis, así como la dosis y el momento mejor para su administración. Antes de su aplicación clínica es necesario continuar estos estudios en diferentes modelos animales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS y cols. Studies in fetal wound healing VI. Second and early third trimester fetal wound demonstrate rapid collagen deposition without scar formation. *J Pediatr Surg* 1990;**25**:63-69.
2. Lorenz HP, Whitby DJ, Longaker MT y cols. Fetal wound healing. The ontogeny of scar formation in the non-human primate. *Ann Surg* 1993;**217**:391-396.
3. Krumel TM, Longaker MT. Fetal wound healing. Harrison MR, Golbus MS, Filly RA (eds). *The unborn patient. Prenatal diagnosis and treatment*. Philadelphia, 1991;526-536.
4. Juliá V, Albert A, Morales L y cols. Características de la cicatrización de las heridas en el período fetal. *Cir Pediatr* 1992;**5**:117-121.
5. Juliá V, Albert A, Morales L y cols. Wound healing in the fetal period: the resistance of the scar to rupture. *J Pediatr Surg* 1993;**28**:1458-1462.
6. Rice BH, Haynes JH, Thomas BL y cols. Analysis of skin grafting techniques in the fetal rabbit. *J Invest Surg* 1991;**4**:69-73.
7. Longaker MT, Whitby DJ, Ferguson MW y cols. Adult skin wounds in the fetal environment heal with scar formation. *Ann Surg* 1994;**219**:65-72.
8. Sancho MA, Juliá V, Albert A y cols. Effect of the environment on fetal skin wound healing. *J Pediatr Surg* 1997;**32**:663-666.
9. Harrison MR. Fetal surgery. *Am J Obstet Gynecol* 1996;**174**:1255-1264.
10. Hefton JM, Madden MR, Finkelstein JL y cols. Grafting of burn patients with allografts of cultured epidermal cells. *Lancet* 1983;**2**:428-430.
11. Kirsner RS, Falanga V, Eaglstein WH y cols. The biology of skin grafts: skin grafts as pharmacologic agents. *Arch Dermatol* 1993;**129**:481-483.
12. Spence RJ, Wong L y cols. Enhancement of wound healing with human skin allograft. *Surg Clin North Am* 1997;**77**:731-745.
13. Lorenz HP, Longaker MT, Perkocho LA y cols. Scarless wound repair, a human fetal skin model. *Development* 1992;**114**:253-259.
14. Iocono JA, Ehrlich PH, Keefer KA y cols. Hyaluronan induces scarless repair in mouse limb organ culture. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:564-567.
15. Ffrench-Constant C, Hynes RO y cols. Alternative splicing fibronectin is temporally and spatially regulated in the chicken embryo. *Development* 1991;**106**:375-388.

16. Longaker MT, Chiu E, Adzick NS y cols. Studies in fetal wound healing V. A prolonged presence of hyaluronic acid in fetal wound fluid. *Ann Surg* 1991;**213**:292-296.
17. Bullard KM, Cass DL, Banda MJ y cols. Transforming growth factor beta-1 decreases interstitial collagenase in healing human fetal skin. *J Pediatr Surg* 1997;**32**:1023-1027.
18. Lin RY, Adzick NS. The role of the fetal fibroblast and transforming growth factor- β in a model of human fetal wound repair. *Semin Pediatr Surg* 1996;**5**:165-174.
19. Sullivan KM, Lorenz HP, Meuli M y cols. A model of scarless human fetal wound repair is deficient in transforming growth factor beta. *J Pediatr Surg* 1995;**30**:198-202.
20. Lanning DA, Diegelmann RF, Yager DR y cols. Myofibroblast induction with transforming growth factor- β 1 in cutaneous fetal excisional wounds. *J Pediatr Surg* 2000;**35**:183-188.