



Edita: Grupo de Investigación de Radiobiología  
Dpto. Radiología y Medicina Física  
Universidad de Málaga (España)

Radiobiología 9 (2009) 207-210

**Radiobiología**

Revista electrónica

<http://www-rayos.medicina.uma.es/rmf/radiobiologia/revista/radiobiologia.htm>

## **Piel cultivada: técnicas y utilización**

*M<sup>a</sup> Inmaculada Fernández Maldonado*

*Residente de MFYC. Centro de Salud Puerta Blanca. Málaga (España)*

### **INTRODUCCIÓN**

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano y forma la primera línea de defensa para protegerlo de la deshidratación, lesiones e infecciones<sup>1</sup>. Está constituida por dos capas, dermis y epidermis. La epidermis está formada principalmente por estratos de queratinocitos junto a otro tipo de células, entre ellas los melanocitos y las células de Langerhans. Está separada de la dermis por la membrana basal.

La dermis está compuesta por matriz extracelular constituida por colágeno, fibras de reticulina, elastina y glicosaminoglicanos. Los constituyentes celulares son principalmente fibroblastos<sup>2</sup>.

Los traumatismos de la piel que causan un déficit en la continuidad de la misma, como las quemaduras, producen pérdida de agua, electrolitos y proteínas del área de la herida. Además supone una puerta de entrada para gérmenes constituyendo un importante riesgo de infección<sup>2</sup>. Lo ideal sería por tanto cubrir la piel dañada lo antes posible para evitar la pérdida de fluidos y la contaminación<sup>2</sup>.

### **CULTIVO DE PIEL**

Se ha observado que al contrario que otros tipos de células, las de origen epitelial tomadas directamente de la piel pueden ser cultivadas en presencia de una capa de fibroblastos de alimentación. Cuando se cultivan en presencia de factor de crecimiento epidérmico (FEAG), ligando del receptor de FEAG, como el factor de crecimiento o transformación (TGF), se puede ampliar significativamente su potencial de crecimiento<sup>1</sup>.

Surge el concepto de ingeniería de los tejidos, aprobado en 1987 por el grupo de bioingeniería del National Science Foundation de Washington, el cual se refiere a la aplicación de los principios y métodos de la ingeniería hacia el desarrollo de sustitutos biológicos<sup>2</sup>.

En el caso de la piel, los cultivos pueden clasificarse en<sup>2</sup>:

- In vitro
  - Epidermis o mucosa oral
  - Dermis
    - Artificial: Colágeno-glicosaminoglicano (C-GAG), poliglicólicos/poliglactina (PGA/PGL), otros materiales
    - Alogénico
  - Combinación de dermis y epidermis
- In vivo: Combinación de dermis y epidermis

Pueden distinguirse también los cultivos en autólogos, que provienen del propio paciente a quien se va a injertar, y alogénicos, pudiendo existir en estos últimos problemas de transmisión de enfermedades, así como diversas cuestiones éticas aún no resueltas<sup>3</sup>.

### **Cultivo de epidermis**

El primer registro sobre epidermis cultivada data de 1975, Rheinwald y Green obtuvieron el estratificado de colonias de queratinocitos humanos. Utilizaron una combinación de hidrocortisona, factor de crecimiento epidérmico (FEAG), y fibroblastos murinos irradiados para apoyar la proliferación de los queratinocitos sobre sustratos plásticos. Los siguientes compuestos se han ido añadiendo para mejorar el cultivo y los medios para facilitar la hoja de formación. Así por ejemplo, insulina para promover la absorción de glucosa y aminoácidos, de transferrina para desintoxicar de hierro, hidrocortisona para promover la fijación de células y proliferación celular, tri-iodotiroxina que es mitogénica para los queratinocitos, y la toxina del cólera reguladora del AMPc<sup>2</sup>.

Los diversos métodos para cultivo in vitro de epidermis que se han desarrollado hasta ahora deben constar de<sup>2</sup>:

- Recubrimiento de las superficies de cultivo con moléculas de la matriz extracelular (colágeno, fibronectina, laminina).
- Concentración variable de calcio en el medio de cultivo, ya que sus iones juegan un papel vital en el crecimiento y la diferenciación de los queratinocitos.
- Uso de extractos biológicos complejos, como el extracto de pituitaria bovina.
- Adición de mitógenos y/o oligoelementos.

En el cultivo autólogo se extrae tejido epidérmico humano del tamaño aproximado de un sello de correos del mismo paciente al que posteriormente se aplicará el tejido resultante. Después de 3 semanas de cultivo se obtiene un injerto adecuado para el trasplante<sup>3</sup>. La ventaja de este método, es principalmente el uso de piel del propio paciente, de esta forma se obtiene un bajo riesgo de transmisión de enfermedades. Este método supone una gran posibilidad de expansión, unos 2 cm<sup>2</sup> de superficie de la piel del donante son suficientes para injertos que pueden cubrir toda el área de superficie corporal de un adulto<sup>1</sup>. En 1981 se logró su utilización clínica en pacientes con quemaduras<sup>3</sup>. Así pues, además de su uso como base para la reconstrucción de quemaduras, los tejidos epidérmicos cultivados pueden ser usados también en el tratamiento de heridas crónicas y úlceras<sup>1</sup>.

Pero esta técnica tiene una serie de inconvenientes a tener en cuenta: el paciente sufre una lesión epidérmica adicional con la extracción<sup>1,3</sup>. El tiempo de espera hasta su utilización supone un riesgo importante de infección<sup>1-3</sup> (se necesitan de dos a tres semanas para obtener cantidad suficiente<sup>3,4</sup>) y la epidermis cultivada es muy delgada y frágil suponiendo un problema en los

pacientes en los que la dermis ha sufrido un importante daño<sup>3</sup>. Además se emplean materiales potencialmente inmunogénos en el injerto, como suero y aditivos entre otros, que pueden contribuir a su pérdida. Asociándose a ello un alto coste en la producción<sup>2</sup>.

Los aloinjertos de piel de cadáver han dado excelentes resultados. Cuando se utilizan, la dermis sobrevive y la epidermis se sustituye más tarde con queratinocitos autólogos cultivados. En este tipo de injertos hay un riesgo real de transmisión de infecciones, aunque la demanda supera considerablemente a la oferta. Estos problemas son los que llevan al desarrollo de piel artificial<sup>5</sup>.

La llamada piel artificial, está constituida por colágeno dérmico bovino y condroitin-6-sulfato de tiburón superpuestos con una hoja de Silastic, actuando como una capa epidérmica temporal que más tarde ha de ser sustituida por un autoinjerto u hojas de queratinocitos cultivados. El uso de este compuesto reduce la pérdida de fluidos y la contractura de la herida<sup>5</sup>.

### ***Cultivo de mucosa oral***

El cultivo específico de mucosa oral, se utiliza enfocado a la cirugía reconstructiva para cerrar las heridas como alternativa a injertos de colgajos libres yeyunales (que suponían una laparotomía y por tanto mayor morbilidad para el paciente) o colgajos musculares que pueden ser utilizados para cubrir pequeños defectos, si bien, se complica en ocasiones por el retraso en la cicatrización<sup>2</sup>. Izumi et al, llevaron a cabo técnicas de cultivo de mucosa oral, usando un componente dérmico acelular y queratinocitos orales con buenos resultados<sup>6</sup>.

### ***Cultivo de dermis***

La dermis tiene como principales funciones biológicas el soporte mecánico para las células que participan en la formación de la estructura de la piel, capacidad de proporcionar elasticidad y resistencia a la tracción, y funciona como material de anclaje para glándulas y estructuras queratinizantes de la piel como son el pelo o las uñas<sup>2</sup>.

El cultivo básico de la dermis, consta de un elemento principal, el colágeno u otro material biodegradable usado como andamio para el crecimiento de los fibroblastos. Los fibroblastos cultivados permiten la producción de sustancias fisiológicamente activas importantes en la reconstrucción del tejido conectivo<sup>3</sup>.

La dermis artificial está constituida por colágeno-glicosaminoglicano dérmico (C-GAG)/ elastómero de silicona epidérmico, que ha de ser retirado y cambiado por cultivo de queratinocitos, poliglicólico/poliglactina dérmica con fibroblastos o fibroblastos más queratinocitos y otros materiales<sup>2</sup>. Hay que tener en cuenta, que el sustituto dérmico no sería útil sin la epidermis, ya que la dermis artificial no induce el crecimiento de queratinocitos<sup>2</sup>.

Existe también la posibilidad de utilización de dermis alogénica, procedente de donante cadáver o vivo, y que es otra posibilidad de sustituto dérmico<sup>2</sup>. Otra forma de obtención de tejido dérmico y epidérmico es in vivo. Los primeros intentos se llevaron a cabo con la colocación de una cámara de silicona introducida a través de una incisión en profundidad separando el tejido subcutáneo<sup>2</sup>.

### ***Otros usos***

Además de la sustitución de piel en quemaduras y heridas, cabe la posibilidad que su utilización para corregir enfermedades de la piel. Es el caso de su utilización en el vitíligo o la Epidermiolisis bullosa recesiva utilizando células madre epidérmicas<sup>1</sup>.

En el caso del vitíligo, los cultivos de queratinocitos han demostrado más ventajas que los melanocitos de cultivo puro. Los queratinocitos regulan el crecimiento y diferenciación de melanocitos y además el cultivo de queratinocitos es de más fácil producción permitiendo grandes cantidades de autoinjertos cultivados en un tiempo más corto que el requerido para el cultivo de melanocitos puros<sup>7</sup>. La pigmentación comienza en el centro como discreta pigmentación folicular y se va extendiendo reduciendo progresivamente la zona acrómica<sup>8</sup>.

## CONCLUSIÓN

El cultivo in vitro de células epidérmicas supone una gran ventaja en el tratamiento de patologías como las quemaduras. Gracias a ello, los pacientes pueden reducir la morbilidad que supone la pérdida de grandes áreas de la piel e iniciar su recuperación. En el futuro se espera que mejoren las técnicas de cultivos alogénicos, lo que supondría disminuir el tiempo de espera para recibir un trasplante de piel que ronda ahora las 3 semana (tiempo que tardan los autocultivos en alcanzar un tamaño adecuado para el trasplante), así como la ampliación de su utilización en diversas patologías.

## Referencias

1. Alonso L, Fuchs E. Stem cells of the skin epithelium. PNAS 2003; 100(1):11830-11835.
2. Pomahac B, Svensjö T, Yao F, Brown H, Eriksson E. Tissue engineering of skin. Crit Rev Oral Biol Med 1998; 9(3):333-344.
3. Hata K. Current issues regarding skin substitutes using living cells as industrial materials. J Artif Organs 2007; 10:129-132.
4. Munster A. Cultured skin for massive burns. A prospective, controlled trial. Ann Surg 1996; 224(3):372-377
5. Nanchahal J, Davies D. Cultured composite skin grafts for burns. BMJ 1990; 301:1342-1343.
6. Izumi K, Terashi H, Marcelo CL, Feinberg SE. Development and characterization of a tissue-engineered human oral mucosa equivalent produced in a serum-free culture system. J Dent Res 2000; 79(3):798-805.
7. Guerra L, Capurro S, Melchi F, Primavera G, Bondanza S, et al. Treatment of "stable" vitíligo by timed surgery and transplantation of cultured epidermal autografts. Arch Dermatol 2000; 136: 1380-89.
8. Bernardino CM, Jussara, Puzzi. Melanocyte transplantation for the treatment of vitiligo: effects of different surgical techniques. Eu J Dermatol 2003; 13 (1):34-9