

# INTERACCIÓN DE DIFERENTES TIPOS DE INSUMOS DE HERIDAS EN EL CULTIVO DE FIBROBLASTOS HUMANOS

AUTORA

*Isabel Aburto Torres*

Enfermera, Especialista en Heridas y Úlceras, Directora de Fundación Instituto Nacional de Heridas, Presidenta Sociedad de Enfermeras Latinoamericana en Heridas  
Correspondencia a: [iaburt@inheridas.cl](mailto:iaburt@inheridas.cl)



Los fibroblastos son las células principales implicadas en la formación del tejido de granulación en la fase proliferativa de la cicatrización de heridas. La adecuada capacidad proliferativa y el mantenimiento de la viabilidad de los fibroblastos es clave para promover un adecuado proceso de cicatrización. En este estudio, se ha analizado la respuesta in vitro de fibroblastos primarios a tres tipos de materiales habitualmente utilizados en tratamiento de heridas: tul de petrolato, tul de silicona y alginato. Para ello se ha determinado la proliferación y viabilidad celular, así como la morfología de los fibroblastos en presencia de los citados materiales. Los resultados muestran que la proliferación de los fibroblastos disminuye en presencia del tul de petrolato y alginato, en cambio el tul de silicona muestra una adecuada viabilidad y proliferación de los fibroblastos. No se observan cambios morfológicos con respecto al grupo control, excepto en el caso de las células que, en presencia de alginato, se despegan de la superficie de cultivo y se mantienen de forma agrupada. El estudio muestra la diferente respuesta de los fibroblastos a la presencia de materiales utilizados en la curación de heridas; si bien más estudios son necesarios para determinar la respuesta de estos materiales a nivel molecular, esta primera aproximación puede proporcionar claves para entender su comportamiento en las heridas.

Los fibroblastos son las células principales implicadas en la formación del tejido de granulación en la fase proliferativa de la cicatrización de heridas. La adecuada capacidad proliferativa y el mantenimiento de la viabilidad de los fibroblastos son claves para promover un adecuado proceso de cicatrización. En este estudio se ha analizado la respuesta *in vitro* de fibroblastos primarios a tres tipos de materiales habitualmente utilizados en tratamiento de heridas: tul de petrolato, tul de silicona y alginato. Para ello se ha determinado la proliferación y viabilidad celular, así como la morfología de los fibroblastos en presencia de los citados materiales. Los resultados muestran que la proliferación de los fibroblastos disminuye en presencia de tul de petrolato y silicona, si bien las células se mantienen viables.

**Palabras clave:** Fibroblastos, petrolato, silicona, alginato.

#### **ABSTRACT:**

Fibroblasts are the main cells involved in the formation of granulation tissue in the proliferative phase of wound healing. The adequate proliferative capacity and maintenance of fibroblast viability is key to promoting an adequate healing process. This study analyzed the *in vitro* response of primary fibroblasts to three materials commonly used in wound treatment: petrolatum tulle, silicone tulle and alginate. For this purpose, cell proliferation and viability, as well as the morphology of the fibroblasts, have been determined in the presence of the aforementioned materials. The results show that the proliferation of fibroblasts decreases in the presence of petrolatum and alginate; on the other hand, silicone tulle shows adequate viability and prolife-

ration of fibroblasts. No morphological changes are observed with respect to the control group, except in the case of the cells in the presence of alginate, which detach from the culture surface and remain in clusters. The study shows the different responses of fibroblasts to the presence of materials used in wound healing. Although more studies are necessary to determine the response of these materials at the molecular level, this first approach can provide keys to understanding their behavior in the wound.

**Keywords:** Fibroblasts, petrolatum, silicone, alginate.

#### **INTRODUCCIÓN:**

Los fibroblastos son las células que más abundan en el tejido conectivo y se encargan de mantener la matriz extracelular, generando las fibras de colágeno y de elastina. Los fibroblastos intervienen activamente en la cicatrización de las heridas y también intervienen en el sistema inmune. Llevan el sufijo de 'blasto' porque hacen referencia a células inmaduras que después pasan a ser células maduras y en este caso llevan el sufijo de 'citos' (fibrocitos). En resumen, los fibroblastos son las células que están activas y cuando no tienen que reparar tejidos o se acaba la edad de crecimiento se convierten en fibrocitos<sup>1,2,3,4</sup>.

En el proceso de valoración de una herida o úlcera es de suma importancia evaluar qué tipo de carga bacteriana presenta, lo que permitirá el manejo y optimización de los insumos clínicos a utilizar. Según la carga bacteriana se pueden distinguir tres niveles: infección, colonización crítica y colonización baja; en el caso de esta última las especies microbianas transitorias logran crecer y multiplicarse, pero en cantidades bajas. Clínicamente la lesión presenta 100% de tejido

granulatorio y el exudado es seroso, Fotografía 1. El exudado frecuentemente es bajo, pero también se puede encontrar exudado moderado a abundante; cuando hay exudado escaso, los protocolos de curación avanzada son con tul de petrolato, tul de silicona entre otros y cuando el exudado es moderado a abundante es con alginato, entre otros<sup>5</sup>.

El tul de petrolato (conocido también como gasa parafinada) corresponde a una gasa tejida de malla ancha, impregnada con emulsión de petrolato, un aceite que proviene de la destilación del petróleo, Fotografía 2. El tul de silicona es una lámina de contacto porosa, transparente, microadherente, perforada, compuesta de silicio y oxígeno, Fotografía 3. El apósito de alginato está compuesto de polisacáridos naturales biodegradables de fibras no tejidas derivados de la sal de calcio del ácido algínico; todos están compuestos de iones de calcio y sodio en distin-

tas proporciones, dependiendo del fabricante<sup>6</sup>, Fotografía 4.

En el área clínica de la FINH se ha observado que en los pacientes con heridas o úlceras con colonización baja con exudado escaso/seroso, con 100% de tejido de granulación activo, al aplicar tul de petrolato como apósito primario, el tejido de granulación se observa pálido a las 72 horas y el exudado pasa a ser turbio, sin contracción del lecho de la lesión, lo que no ocurre con el tul de silicona que contrae la herida o úlcera y mantiene el exudado seroso y el tejido de granulación activo. También se observa que en los pacientes con colonización crítica tratados en los CESFAM con tul de petrolato, rápidamente aumenta más la carga bacteriana y muchos de ellos se infectan. En el caso del alginato utilizado en colonización baja con exudado moderado a abundante, también se torna pálido, pero se mantiene el exudado seroso. Dado que estas observaciones se han

1 FOTOGRAFÍA



2 FOTOGRAFÍA



3 FOTOGRAFÍA



4 FOTOGRAFÍA



compartido con otras Instituciones de Salud, las que manifiestan lo mismo, se solicitó a un laboratorio internacional especializado en Biología Celular, que nos ayudara a saber científicamente por qué ocurre este proceso. La empresa diseñó una investigación con estos insumos, aplicando fibroblastos humanos in vitro para dar respuesta a lo observado.

## DISEÑO DEL ESTUDIO

### Objetivo general:

Analizar la respuesta de fibroblastos humanos en cultivo en presencia de insumos que se utilizan de rutina en el manejo de la heridas y úlceras en colonización baja.

### Metodología:

#### *Cultivo celular*

Los fibroblastos primarios se aislaron de la piel humana amablemente donada por pacientes adultos que se habían sometido a un proceso de cirugía estética, previa firma del correspondiente consentimiento informado. Los fibroblastos se obtuvieron como lo describieron previamente Wang et al. y cultivados en DMEM (Sigma-Aldrich D5796, St. Louis, (MO), EE. UU.) suplementado con un 10% de suero bovino fetal (SBF), 100 U/mL de penicilina y 100 mg/mL de estreptomina (HyClone Laboratories, South Logan, (UT), EE. UU.) y mantenidos a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>.

#### *Testeado de los materiales*

Para el análisis del efecto de los diferentes materiales, los fibroblastos se sembraron en placas de cultivo de 24 pocillos, a razón de 20.000 células/pocillo y se dejaron acondicionar durante 24 horas en DMEM + 10% de SBF, a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Transcurrido este tiempo, se refrescó el medio de cultivo y se adicionaron fragmentos

de 1 cm<sup>2</sup> de apósitos comerciales basados en tul de petrolato y silicona y apósito de alginato. El grupo control se refiere al cultivo en condiciones estándar, sin la disposición de materiales en el pocillo.

#### *Parámetros analizados*

Tras 24 y 48 horas de asociación con el material, se analizó la morfología celular y se cuantificó el número de células viables. Para ello se retiraron del pocillo los materiales, se realizaron imágenes de microscopía invertida para el seguimiento del cultivo. Posteriormente, se eliminó el medio de cultivo y se adicionaron 0.5 mL de tripsina-EDTA por pocillo (TRYP SIN 0,05%-EDTA(1X); A1125300054, Invitrogen), para desprender las células de la superficie de cultivo. Una vez obtenidas, se realizó el recuento de células viables mediante el método de exclusión con azul tripán y el uso de un hemocitómetro.

Al mismo tiempo se realizó el análisis de la viabilidad de las células en presencia de los diferentes materiales mediante el método live-dead (Invitrogen™ L3224), que permite visualizar de forma simultánea las células vivas (verde) y muertas (rojo), por microscopía de fluorescencia, Figura 1.

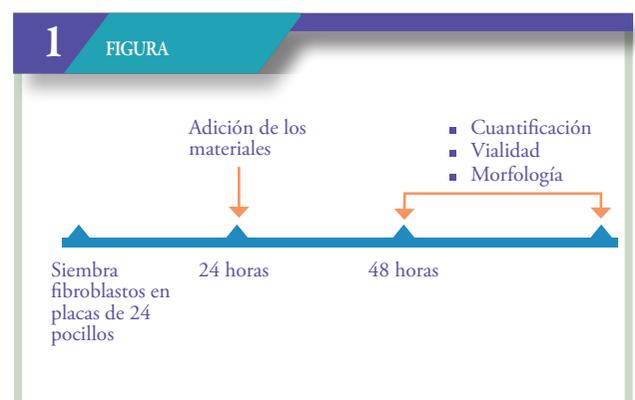


Figura 1: Esquema de los ensayos in vitro para el análisis del efecto de los materiales para heridas en fibroblastos humanos.

## RESULTADOS

### a) Cuantificación de células viables

El análisis de células viables indica que las células en presencia del material de silicona presentan un perfil de crecimiento similar a la condición control (sin exposición a materiales). El número de células en presencia del tul de petrolato disminuye un 30% y 53% a las 24 y 48 horas de la adición del material, respectivamente, y en presencia del apósito de alginato se produce una disminución del 71% y 65% a las 24 y 48 horas, respectivamente, Figura 2.

### b) Análisis de la morfología celular en presencia de los materiales

La observación de las células al microscopio, indica que los materiales de silicona y petrolato mantienen de forma adecuada la morfología de los fibroblastos; sin embargo, en presencia de alginato, las células se despegan de la superficie de cultivo y se mantienen en agregados, Figura 3.

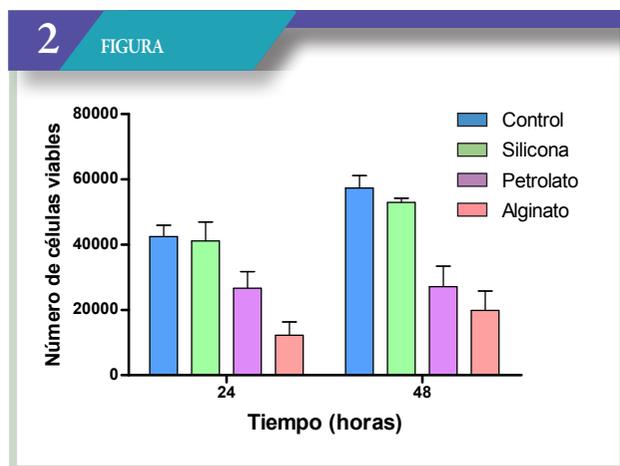


Figura 2: Cuantificación de las células viables en presencia de los materiales estudiados a las 24 y 48 horas de cultivo. Los resultados muestran una disminución significativa de la proliferación a las 48 horas de los fibroblastos en presencia de petrolato y alginato con respecto al control y al tul de silicona (T-student,  $p < 0.05$ )

### c) Viabilidad celular – Live-Dead

El análisis de la viabilidad mediante la técnica fluorescente live-dead, que permite observar las células vivas en verde y las muertas en rojo, de forma simultánea en el mismo campo de observación, muestra que la gran mayoría de las células se encuentran viables en presencia de los apósitos de silicona y petrolato. Cuando las células se cultivan con el apósito de alginato, se observa de nuevo cómo se despegan, se mantienen agrupadas y se observa la presencia de células no viables (en rojo), Figura 4.



Figura 3: Imágenes de microscopía óptica invertida de los fibroblastos primarios tras 24 horas de exposición a los materiales estudiados.

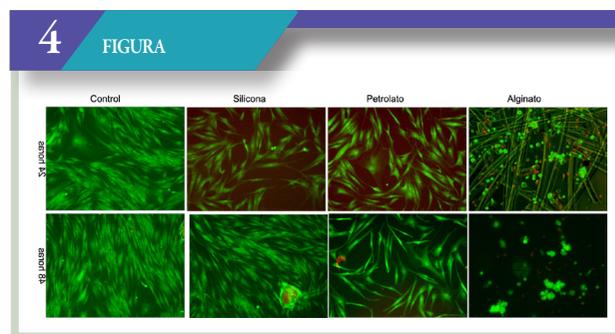


Figura 4: Imágenes de microscopía invertida de fluorescencia del test live-dead de los fibroblastos primarios tras 24 y 48 horas de exposición a los materiales del estudio. Las células viables se muestran en verde y las no viables en rojo. Se observa que la gran mayoría de las células se encuentran viables en los materiales del estudio, si bien en presencia del alginato se despegan de la superficie de cultivo y se mantienen en asociación, apareciendo un leve aumento de células no viables.

## DISCUSIÓN

El presente estudio analiza el efecto sobre la viabilidad, morfología y proliferación de fibroblastos primarios procedentes de donantes adultos expuestos a diversos materiales utilizados como apósitos en el tratamiento de heridas. Los materiales analizados son el tul de silicona, tul de petrolato y apósito de alginato.

Los resultados en este modelo in vitro muestran una disminución de la proliferación de fibroblastos en presencia del tul de petrolato y el alginato, sin embargo el tul de silicona mantiene la proliferación celular a los mismos niveles del control. En el caso del alginato la disminución de la proliferación puede ser debida a que se produce una pérdida de la adhesión de los fibroblastos a la superficie de cultivo y se disponen en grupos. De esta manera se interfiere en la capacidad de proliferación celular, ya que los fibroblastos son un tipo celular adherente. Además, aunque la proliferación esté disminuida en presencia de estos dos materiales, el ensayo de viabilidad celular mediante el método live-dead, indica que las células mantienen su viabilidad de forma adecuada, si bien en presencia de alginato, debido a la pérdida de la adhesión, se observa un mayor número de células no viables en rojo. Este comportamiento celular en presencia de alginato podría deberse a niveles de calcio aumentados proporcionados por el alginato, que pueden alterar aspectos funcionales de los fibroblastos in vitro. Para determinar el tipo de interacción a nivel celular son necesarios estudios a nivel molecular, para determinar el mecanismo por el cual se interacciona en la capacidad de adhesión y proliferación de los fibroblastos.

Dado los resultados encontrados en el estudio de fibroblastos humanos, es importante continuar investigando qué ocurre con los otros insumos

que se utilizan para absorber en colonización baja, como son las espumas hidrofílicas y las carboximetilcelulosas, y los que se aplican cuando el exudado es escaso como los apósitos de hidrogeles, poliéster o poliuretanos, con la finalidad que los clínicos utilicen los insumos adecuadamente al momento de la elección del apósito primario.

## CONCLUSIONES

El estudio revela que en el modelo celular in vitro las células expuestas al apósito basado en tul de silicona muestra una adecuada viabilidad y proliferación, mientras que estas células disminuyen su proliferación en presencia de tul de petrolato y alginato. Todos los materiales mantienen una adecuada viabilidad, siendo óptima en los tules de silicona y petrolato. El apósito de alginato, debido fundamentalmente a la pérdida de la capacidad de adhesión de los fibroblastos, produce un ligero aumento de células no viables.

## RECOMENDACIONES CLINICAS

Con el resultado de esta investigación y lo observado en el área clínica de la FINH se recomienda lo siguiente:

### Tul de petrolato:

- a) Nunca aplicar como apósito primario en una herida o úlcera con colonización baja con exudado escaso.
- b) Aplicar como apósito secundario, como por ejemplo, sobre el hidrogel amorfo.
- c) Aplicar como apósito primario en una herida o úlcera epitelizada, con retirada a los 3 a 5 días.

### Tul de silicona:

- a) Aplicar con seguridad como apósito primario en una colonización baja con exudado escaso con cambios cada 7 días.

- b) Se puede aplicar como apósito secundario.
- c) Se puede aplicar como apósito de protección en heridas y úlceras epitelizadas, con retirada a los 7 a 10 días.

#### Apósito de alginato y otros absorbentes:

- a) Al aplicar en heridas y úlceras con colonización baja con exudado moderado a abundante, se debería colocar un apósito de poliéster o silicona como apósito primario y sobre éste aplicar el apósito de alginato para absorber los exudados.
- b) Se debería utilizar la misma recomendación para el uso de las carboximetilcelulosa, hasta obtener los futuros estudios científicos.
- c) En relación a las espumas hidrofílicas, al utilizar en colonización baja con exudado moderado a abundante, se debería preferir aquellas que tienen una fina capa de hidrogel o silicona en relación a aquellas que no las tienen, con la finalidad de proteger a los fibroblastos.

**Declaración de conflicto de interés:** La autora declara no tener conflicto de interés.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Driskell FF, Fiona MW. 2015. Understanding fibroblast heterogeneity in the skin. *Trends in cell biology*. 25: 2. doi 10.1016/j.tcb.2014.10.001
2. Furtado MB, Costa MW, Rosenthal NA. 2016. The cardiac fibroblast: Origin, identity and role in homeostasis and disease. *Differentiation*. 92: 93-101.
3. LeBleu VS, Neilson EG. 2020. Origin and functional heterogeneity of fibroblasts. *The FASEB journal*. 34: 3519-3536.
4. Sriram G, Bigliardi PL, Bigliardi-Qi M. 2015. Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro. *European journal of cell biology*. 94: 483-512.
5. Ministerio de Salud. Orientación Técnica Manejo Integral del Pie Diabético. Chile: Capacitaciones online; 2018. [Acceso 18 de marzo 2022]. Disponible en: <https://www.capacitacionesonline.com/blog/wp-content/uploads/2019/07/Orientaci%C3%B3n-T%C3%A9cnica-Manejo-integral-del-pie-diab%C3%A9tico.-MINSAL-Chile-2018..pdf>.
6. Fundación Instituto Nacional de Heridas, Revista de Enfermeras Latinoamericana en Heridas y Ostomías, Pág. 40 al 42, año 2022.



# VENTA DE GUÍAS CLÍNICAS

## TU GUÍA EN EL TRATAMIENTO AVANZADO DE LAS HERIDAS

- 1 TRATAMIENTO INTEGRAL AVANZADO DE LA ÚLCERA DEL PIÉ DIABÉTICO
- 2 MANEJO INTEGRAL DE ÚLCERA POR PRESIÓN
- 3 TRATAMIENTO INTEGRAL AVANZADO DE LA ÚLCERA VENOSA

### VALORES

UNIDAD: \$20.000 | 3 GUÍAS: \$50.000



## GUÍA DE INSUMOS CLÍNICOS DE HERIDAS Y ÚLCERAS



**DESCARGA GRATUITA!!**

Dirección: Avda. Salvador 737 - Providencia - Santiago | Consultas: (56-2) 22237667 - 22748352

[WWW.INHERIDAS.CL](http://WWW.INHERIDAS.CL)