

ARTÍCULO ORIGINAL

Efecto del limo de la salina de Guantánamo en la cicatrización por segunda intención en ratas

Effect of the saline slime of Guantánamo in the scaring in a second intention in rats

MsC. Jaime Humberto González Tuero

Hospital Clínicoquirúrgico Docente "Dr. Joaquín Castillo Duany", Santiago de Cuba, Cuba.

RESUMEN

Se efectuó un estudio preclínico, experimental y analítico en 100 ratas Sprague-Dawley para determinar los efectos del limo de la salina de Guantánamo en la cicatrización por segunda intención en un modelo de herida incisional, mediante el control simultáneo a dichas ratas. Estas fueron distribuidas en 4 grupos: uno de estudio y 3 controles; a los primeros se les aplicó limo y los segundos fueron tratados con NaCl al 0,9 %; NaCl al 4,0 % y Hebermin[®], respectivamente. Se constató que las heridas cicatrizaron más rápido con limo y que hubo una reacción inflamatoria aguda efectiva al reducir el edema y el tejido desvitalizado, además de estimular la angiogénesis, la fibroplasia y la reepitelización. Se concluyó que el limo de la salina de Guantánamo posee propiedades cicatrizantes más efectivas que el Hebermin[®] y el NaCl al 4,0 %.

Palabras clave: ratas Sprague-Dawley, herida incisional, cicatrización de la herida, limo, salina de Guantánamo.

ABSTRACT

A preclinical, experimental and analytical study was carried out, in 100 Sprague-Dawley rats to determine the effects of the saline slime from Guantánamo in the scaring for second intention in a model of incisional wound, by means of the simultaneous control to them. They were distributed in 4 groups: a study group and 3 control groups; the first ones were treated with slime and the second ones were treated with 0,9% NaCl; 4,0% NaCl and Hebermin[®], respectively. It was verified that the wounds healed quicker with slime and that there was an effective acute inflammatory reaction when reducing the edema and the devitalized tissue, besides stimulating the angiogenesis, fibroplasia and reepitelization. It was concluded that the saline slime from Guantánamo has more effective healing properties than Hebermin[®] and 4,0% NaCl.

Key words: Sprague-Dawley rats, incisional wound, scaring of wound, slime, Guantánamo saline.

INTRODUCCIÓN

Las heridas que curan por segunda intención son más lentas en cicatrizar y necesitan de un factor que acelere su reparación, pero el valor de los medicamentos cicatrizantes es elevado a escala internacional. En ese sentido, los peloides son productos naturales cuyo coste solo radica en la recolección y la transportación, entre los cuales figuran los limos, que por indicación de la Resolución Ministerial 198 se incrementó su uso a partir de 1991.¹⁻³

No existen estudios científicos que demuestren los efectos directos de los peloides en la cicatrización. En una investigación efectuada en Santiago de Cuba⁴ se corroboró que el limo de la salina de Guantánamo acelera la curación de heridas infectadas, dada su gran capacidad antibacteriana; sin embargo, la infección local constituye la primera causa de retardo en la reparación.

El hecho de curarse más rápido la herida infectada donde se aplica el antibacteriano más efectivo, da la impresión de haber acelerado la cicatrización, cuando en realidad solo ocurre una reparación fisiológica con menos interferencia, de manera que para determinar si un producto posee efectos cicatrizantes, debe ser estudiado en ausencia de factores que interfieran el proceso. Por ello, se decidió determinar los efectos de este limo en la cicatrización por segunda intención en heridas incisas experimentales.⁴⁻⁶

MÉTODOS

Se realizó un estudio preclínico, experimental y analítico para determinar los efectos del limo en la cicatrización por segunda intención en heridas agudas incisionales, mediante el control simultáneo a grupos de un modelo biológico, para lo cual se utilizaron 100 ratas Sprague-Dawley (machos), de 200- 300 g y de 8- 9 semanas de vida.

El limo utilizado procedió de la laguna 26 de la salina "Frank País García", de la provincia de Guantánamo. Para anestesiarse a las ratas se administró 0,5 mg de ketamina (inyección intraperitoneal) a una dosis de 2 a 3 mg/kg de peso. Se les recortaron los pelos de la región dorsal del hemitronco inferior y se dibujó una línea recta de 4 cm de longitud en la línea media dorsal, a 1 cm de la cola. Luego se realizó la incisión en la línea dibujada y se profundizó hasta la aponeurosis dorsal, sin afectar la capa muscular.

Estas fueron distribuidas en 4 grupos: uno de estudio y 3 controles;

Las ratas se distribuyeron de forma aleatoria en 4 grupos (25 en cada uno): uno de estudio (GE) y 3 controles (GC1, GC2 y GC3).

A las del grupo de estudio (GE) se les aplicó limo y las de los grupos controles fueron tratadas con NaCl al 0,9 % para el grupo 1; NaCl al 4,0 % para el 2 y Hebermin[®] para el 3.

Para los estudios macroscópicos se escogieron diariamente 10 ratas de cada grupo, de forma aleatoria a partir de las 48 horas de evolución y para los microscópicos, 3 ratas de cada grupo a las 72 horas y a los 5, 10, 15 y 20 días de evolución.

La eutanasia se realizó por tracción y dislocación de la columna cervical. Las muestras fueron extraídas mediante una incisión elíptica, longitudinal a 3 cm por fuera de los bordes y se conservaron en formol al 10 %. Se les aplicaron tinciones histoquímicas con hematoxilina y eosina, con ácido periódico de Schiff (PAS) y con técnica tricrómica de Mallory.

- Variables macroscópicas
 - Longitud.
 - Área.
 - Secreción: se precisó calidad (purulenta, serosa turbia, serosa clara), cantidad (abundante, escasa o ausente) y olor (fétida o no).
 - Tejido desvitalizado: se precisó la existencia (presente o ausente) y la cantidad (abundante, escaso y ausente).
 - Tejido de granulación: se precisó la existencia (presente o ausente) y la calidad (no útil, útil escaso y útil abundante).
 - Tiempo evolutivo: días cumplidos hasta que fueron declaradas cerradas.
- Variables microscópicas
 1. Respuesta inflamatoria aguda: ausente, ligera, moderada e intensa.
 2. Edema: ausente, ligero, moderado e intenso.
 3. Angiogénesis: ausente, ligera moderada e intensa.
 4. Fibroplasia: ausente, inmadura y madura.
 - Fibroblastos: Se clasificaron en ausentes, escasos, abundantes y muy abundantes.
 - Colágeno: ausente, escaso y abundante.
 5. Reepitelización: ausente, presente e hiperplásica.

Para determinar el efecto de los productos en la cicatrización, cuando el resultado fue menor al del GC1 se dedujo inhibición de la variable por el producto; si fue mayor, estímulo de la variable y si fue similar, ausencia de estímulo e inhibición de la variable.

Los datos fueron procesados en una microcomputadora HP® (Pavilion g series) y se utilizó la *t* de *student* como medida de comparación de la media aritmética. Se determinó con 5 % de significación, con diferencias significativas de *t* menor de 2,10 y mayor de 2,10.

RESULTADOS

En todos los grupos (tabla), el cierre de las heridas se produjo luego de 20 días. En el GE cerró con 21,5 días como promedio, significativamente menor en 5 días y medio al GC1, en 3 al GC2 y en 5 al GC3 (tabla).

Tabla. Cierre de las heridas según días y número de ratas

Grupos	Días para el cierre						Media aritmética	Desviación estándar	t*
	21	22	24	25	26	27			
GC1						10	27,0	0,0	33,7
GC2			2	8			24,8	0,4	15,9
GC3					5	5	26,5	0,5	21,8
GE	5	5					21,5	0,5	

t*: valores de la *t* de *student* con respecto al GE

Hasta las 48 horas de evolución hubo un desarrollo similar de las longitudes en los grupos controles 1 y 2, así como en el grupo de estudio. Luego, este último, fue menor al GC1 (entre los 10 y 12 días, a los 15 y 17 días y desde los 18 días hasta el cierre), al GC2 (a los 10 días y desde los 19 días) y al GC3 (los días 3, 5, 7, 8, 10, 11, 14, 15 y a partir de los 19); asimismo, hubo una reducción más rápida del área en las heridas tratadas con limo. Resultó menor al GC1 desde los 13 días (figura 1), al GC2, desde los 15 días (figura 2) y al GC3 a los 5 días, del 7 al 10 y desde los 13 hasta el cierre (figura 3).

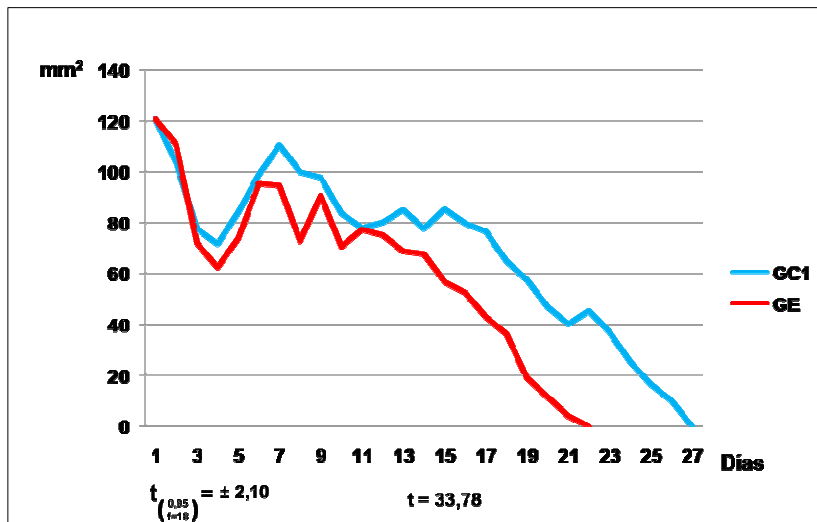


Fig. 1. Medias de las áreas de las heridas de los grupos GC1 y GE, por días de evolución

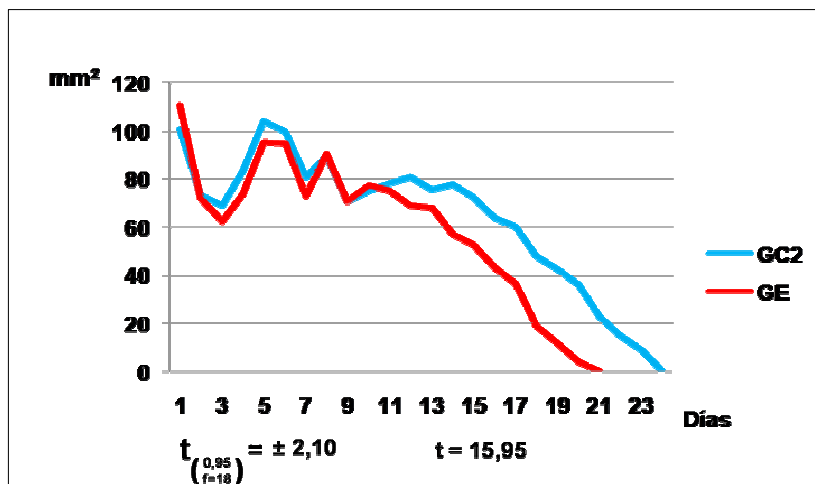


Fig. 2. Medias de las áreas de las heridas de los grupos GC2 y GE, por días de evolución

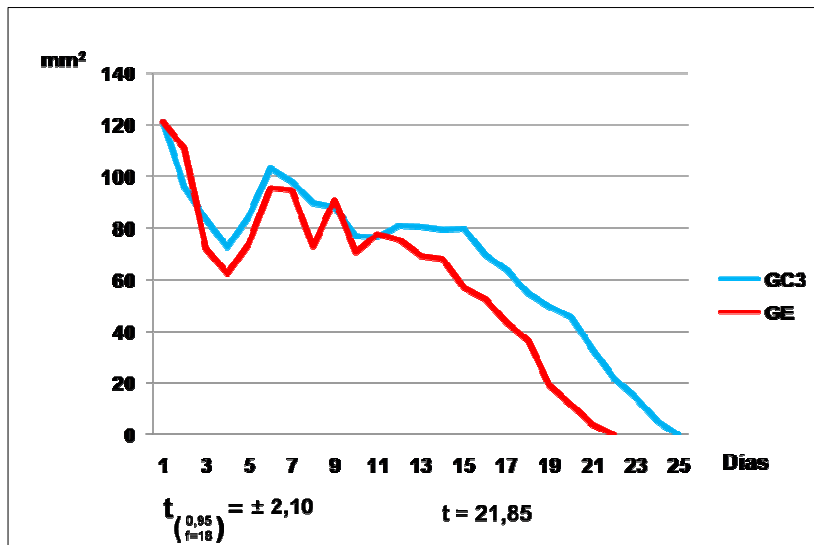


Fig.3. Medias de las áreas de las heridas de los grupos GC3 y GE, por días de evolución

Las heridas no mostraron secreciones ni fetidez y las costras siempre estuvieron presentes y eran secas. En los grupos controles resultaron frágiles y en el grupo de estudio fueron duras desde los 10 días; asimismo, en los grupos controles 1 y 2 estuvieron adheridas todo el tiempo y en los grupos de estudio y de control 3, evolucionaron muy adheridas desde los 7 y 5 días, respectivamente.

El tejido desvitalizado en el GC1 y GC3 resultó abundante hasta los 3 días, escaso hasta los 5 y ausente el resto del tiempo; en el GC2 y GE resultó ser abundante hasta las 48 horas, escaso hasta los 4 días y ausente después.

Por otra parte, el tejido de granulación fue útil y escaso en el grupo de estudio a partir de los 3 días y se hizo abundante desde los 12. En el grupo control 1 fue visto a los 7 días y se hizo abundante desde los 19; en el 2 y en 3 se visualizó a los 7 días y fue abundante desde los 16 y 19 días, respectivamente.

La respuesta inflamatoria aguda fue intensa a las 72 horas y estuvo ausente el día del cierre. Al respecto, no hubo diferencias entre el GE y el GC1; asimismo, en el GC2 fue intensa hasta los 15 días y moderada a los 20; en el 1, moderada a los 5 días y ligera los demás días; en el 3, intensa hasta los 10 días, ligera a los 15 y ausente el resto del tiempo.

El edema se observó hasta los 10 días. En los grupos controles 1 y 2 el desarrollo resultó similar y en el grupo de estudio evolucionó más rápido a la resolución, es decir, fue menos intenso a los demás a las 72 horas y a los 5 días. En el grupo 3 se prolongó la resolución, pues fue el único grupo con edema intenso a los 5 días y el único con edema a los 10 días.

La angiogénesis resultó similar en los grupos controles, excepto por su ausencia en el GC1 a las 72 horas y en 3 a los 20 días. El GE mostró estímulo, pues la inició antes que el GC1 y fue el único que la presentó intensa.

La fibroplasia inició a las 72 horas, excepto en el GC1, luego no hubo más diferencias, pero el colágeno tuvo una evolución similar en todos los grupos.

Los fibroblastos comenzaron a observarse a las 72 horas, menos en el GC1. Así, en los grupos controles 1 y 3 resultaron abundantes a los 5 días; tanto en el GC2 como en el GE, muy abundantes; en el GC3, muy abundantes a los 10 días y abundantes en los demás; en el GC1 y en el GC2, escasos a los 20 días, mientras que en el GC3 y GE estaban ausentes.

La reepitelización se observó por primera vez a los 10 días en GE, donde se mantuvo hiperplásico hasta el día del cierre. A los 15 días apareció en los demás grupos, sin hiperplasia epitelial hasta el día del cierre.

DISCUSIÓN

La diferencia significativa en el tiempo de evolución de las heridas entre GC1 y GE indicó una curación más rápida con el limo, de manera que este producto es estimula la cicatrización. La diferencia significativa sobre los grupos de control 2 y 3 indicó un estímulo superior al del Hebermin[®] y no fue dependiente exclusivamente de una actividad osmótica.

Existen acciones de la terapia con limos no relacionadas con su actividad osmótica, que pueden formar parte del mecanismo favorecedor de la cicatrización. Su aplicación local desarrolla acciones mecánicas, equilibradoras, químicas, reguladoras, vasodilatadoras, antihistamínicas y favorecedoras de reacciones enzimáticas, como las del adenosintrifosfatasa (ATPasa). Estos elementos le permiten una actividad inductora de hiperemia, con aumento de la irrigación sanguínea de la piel y los tejidos subyacentes, así como la mejoría del trofismo y la actividad metabólica; también tiene actividad antiinflamatoria y activadora de histiocitos y granulocitos.³⁻⁵

Por otra parte, en la respuesta inflamatoria aguda el limo disminuyó el edema y aceleró el desbridamiento y la limpieza; asimismo, la disminución precoz del tejido necrótico demostró una actividad fagocítica neutrofilica más efectiva, aunque la cantidad de neutrófilos se desarrolló en límites similares en el GC1, lo cual permitió establecer un efecto modulador del limo en la actividad de los neutrófilos.

Al comparar el tratamiento con limo y NaCl al 4 %, el primero mostró mejores efectos en la respuesta inflamatoria, pues la capacidad osmótica no es la única forma de actuar el peloide. Por su parte, el Hebermin[®] no mostró actividad favorecedora de esta respuesta, lo cual fue lógico, ya que el factor de crecimiento epidérmico, su principio activo, no posee acciones en los procesos de la primera fase de la cicatrización.^{3-5,7,8}

En este estudio, el limo favoreció los procesos que caracterizan la segunda fase de la cicatrización. Así, estimuló el crecimiento del tejido de granulación, puesto que apareció 3 días antes que en el GC1 y se hizo abundante con 7 días de anticipación, a

la vez que mostró mayor estímulo a su crecimiento que el Hebermin[®] y el NaCl al 4%, al antecederlos en 3 días y hacerse abundante, al menos, 5 días antes.

El limo, el NaCl al 4% y el Hebermin[®] favorecieron la angiogénesis al comenzar en ellos antes que en el GC1; sin embargo, el estímulo del primero de ellos resultó más fuerte y fue el único en lograr niveles intensos.

El limo debió poseer varios mecanismos para hacer precoz e intensa la angiogénesis, de manera que pudo actuar indirectamente como el NaCl al 4% y el Hebermin[®]. Otro mecanismo pudo ser el directo, mediante el estímulo a la actividad de la ATPa en los angioblastos, lo cual permite lograr una mejor utilización de la energía de los ATP para la mitosis y la migración y hacerlas más eficaces.^{5,7,8}

Por otra parte, en cuanto a la fibroplasia, el NaCl al 4%, el Hebermin[®] y el limo mostraron resultados similares en la aparición y maduración de este proceso al no observarse diferencias en cuanto al depósito de colágeno. Estas estuvieron en los fibroblastos.

El limo, el NaCl 4% y el Hebermin[®] favorecieron la proliferación y la migración de los fibroblastos, al observarse antes que en el GC1. Además, solo se lograron cantidades muy abundantes con ellos, aunque el estímulo fue mayor con NaCl al 4% y limo, pues lograron niveles abundantes antes que el Hebermin[®].

Como el limo posee el mecanismo de acción osmótico del NaCl al 4%, es seguro que lo haya utilizado en sus resultados. En ese sentido, dicho mecanismo es similar al de la sacarosa y la miel; sin embargo, no debe haber sido su única forma de actuar, ya que el estímulo a la actividad de la ATPasa pudo influir directamente en el metabolismo de los fibroblastos.^{5,9,10}

El limo estimuló la reepitelización, con aparición e hiperplasia precoces y superó, incluso, los resultados del Hebermin[®], único producto de control con actividad paracrina directa sobre las células epiteliales.^{7,8}

Este resultado se relacionó con varios mecanismos de acción: estimuló el crecimiento del tejido de granulación y estableció rápidamente la matriz para la migración, proliferación y maduración precoz del nuevo epitelio; también pudo haber influido directamente sobre las células epiteliales a través de las microalgas diatomeas y *Dunaliella salina* de su composición, que son ricas en β -carotenos, precursores de la vitamina A y estimuladores de la epitelización en las lesiones de la piel. Por último, el estímulo a la actividad de la ATPasa pudo estar relacionado con el metabolismo de las células epiteliales.^{3,5,11}

El efecto terapéutico del limo hizo temprana la contracción de las heridas, demostrado en la disminución acelerada de la longitud y el área a partir de las 2 semanas de evolución. Con ello disminuyeron la cantidad necesaria de relleno tisular y el área para la reepitelización.

Los resultados del limo coincidieron con los de la sacarosa, la miel de abejas, la curación en ambiente húmedo y el colágeno. El aloe actúa en estas fases, pero reduce en 72 horas la curación experimental; mientras que el limo lo hace en 5 días.^{2,9-13}

Con estas determinaciones se puede afirmar que el limo de la salina de Guantánamo posee propiedades cicatrizantes en la curación por segunda intención de heridas incisas, con un estímulo superior al del NaCl al 4% y al del Hebermin®. Actúa en las 2 primeras fases de la reparación al estimular el desbridamiento, la reducción del edema, la angiogénesis, la fibroplasia, la contracción y la reepitelización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Teller P, White TK. Fisiología de la cicatrización de la herida: de la lesión a la maduración. *Surg Clin N Am*. 2009;89(3):599-610.
2. González JH, Rodríguez R, Machado M, González J, Cabrera J. Heridas. Métodos de tratamiento. *MEDISAN*. 2004 [citado 5 Abr 2012];8(1).
3. Rodríguez R, González JH. Métodos alternativos para el tratamiento de pacientes con heridas infectadas. *MEDISAN*. 2011 [citado 5 Abr 2012];15(4).
4. Rodríguez R, González JH, Cabrera J, Machado M, González J. Efectos del peloide en la cicatrización de heridas abdominales quirúrgicas dehiscentes. *MEDISAN*. 2005 [citado 5 Abr 2012];9(3).
5. Rodríguez R, Cabrera J, González JH, Machado M, González J. Peloidoterapia en las heridas quirúrgicas infectadas. *MEDISAN*. 2004 [citado 6 Jul 2012];8(3).
6. Oficina Nacional de Normalización. Peloides. Especificaciones. Norma Cubana [citado 6 Jul 2012].
7. Fernández J, Berlanga J, López PA, López E, Herrera LS, Yera IB, *et al*. Infiltración del Heberprot-P. Un tratamiento eficaz para la úlcera del pie diabético. *La Habana: Elfos Scientiae*; 2009:1-106.
8. Schneider MR, Werner S, Paus R, Wolf E. Beyond wavy hairs: the epidermal growth factor receptor and its ligands in skin biology and pathology. *Am J Pathol*. 2008;173(1):14-24.
9. Yuzbasioglu MF¹, Kurutas EB, Bulbuloglu E, Goksu M, Atli Y, Bakan V, *et al*. Administration of honey to prevent peritoneal adhesions in a rat peritonitis model. *Int J Sur*. 2009;7(1):54-7.
10. Vizcaíno M, Alarcón I, Sebazco C, Maceira MA. Importancia de la sacarosa para la cicatrización de heridas infectadas. *Rev Cubana Med Mil*. 2013 [citado 6 Jul 2012];42(1):23-6.
11. Woo-Ram L, Ji-Hyun P, Kyung-Hyun K, Soo-Jung K, Dae-Hwan P, Mi-Hyun Ch, *et al*. The biological effects of topical alginate treatment in an animal model of skin wound healing. *Wound Rep Reg*. 2009;17:505-10.

12. Castro Ferreira M, Tuma Júnior P, Fernández Carvalho V, Kamamoto F. Complex wounds. *Clinics*. 2006; 61(6):571-8.
13. Mendonça FA, Passarini Junior JR, Esquisatto MA, Mendonça JS, Franchini CC, Santos GM. Effects of the application of *Aloe vera* (L) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Acta Cir Bras*. 2009; 24(2): 150-5.

Recibido: 21 de abril de 2014.

Aprobado: 20 de junio de 2014.

Jaime Humberto González Tuero. Hospital Clínicoquirúrgico Docente "Dr. Joaquín Castillo Duany", Punta Blanca s/n, Santiago de Cuba, Cuba.