

Uso de esteroides sistémicos en quemaduras de segundo grado en modelo animal

Systemic steroid use in second degree burns in an animal model



Ramos-Gallardo, G.

Ramos-Gallardo, G.*, Ambriz Plascencia, A.R.**, Medina Preciado, D.***, Portilla de Buen, E.****, Rodríguez Madrigal, R.*****, Ochoa, F.*, González Reynoso, L*, Rendón Medina, M.A.*****, Miranda-Altamirano, A.*****

Resumen

El uso de esteroide está reconocido en el tratamiento crítico del paciente quemado y es útil en el choque séptico que no responde a vasopresores. Este grupo de medicamentos ayuda a regular la respuesta hemodinámica mejorando el aporte de sangre a la piel, aunque sabemos que tienen un efecto nocivo en el proceso de cicatrización.

Evaluamos el efecto histopatológico del empleo de esteroides en quemaduras usando un modelo animal. Empleamos 2 grupos de 10 ratas (Wistar) en las que colocamos un cilindro de metal en el dorso durante 15 segundos a 95°C, produciendo una quemadura. En ese momento, uno de los grupos recibió esteroide a dosis de estrés (hidrocortisona 5 mg/kg) y el otro no recibió ningún medicamento. Al quinto día resecamos la escara y cubrimos el defecto con cultivo de queratinocitos. Los animales fueron sacrificadas a los 14 días.

Realizamos análisis histopatológico. Macroscópicamente evaluamos la presencia de infección y el porcentaje de epitelización. Microscópicamente evaluamos la fibrosis, la inflamación, la presencia de fibroblastos y la proliferación vascular. Comparamos ambos grupos usando la prueba de Chi² (SPSS versión 10). Consideramos como significativo un valor $p \leq 0.05$.

No encontramos ningún dato de infección en ninguno de los 2 grupos de estudio. El sitio de la quemadura estaba epitelizado al 100% en el día 14. No encontramos diferencia en fibrosis (p .47), proceso inflamatorio (p .27) y presencia de fibroblastos (p .16). Encontramos diferencia en proliferación vascular (p .05), lo cual puede implicar una diferencia en el proceso de cicatrización en contra del primer grupo, en el que se emplearon los esteroides sistémicos.

En conclusión, encontramos diferencia en la proliferación vascular en contra del grupo de esteroides, lo cual puede tener un efecto negativo en el proceso de cicatrización. Aunque es más importante mantener un paciente vivo, sobre todo en caso de choque séptico que no responde a vasopresores, no estamos seguros de qué consecuencia puede tener este hallazgo en la formación de sinequias o en la contracción de la herida a largo plazo.

Palabras clave Quemaduras, Cicatrización, Esteroides.

Código numérico 154-153

Abstract

The use of steroids is well recognized in critical care specially in septic shock. There are some reports of their utility in severe burns. It helps to regulate the hemodynamic response in order to improve the blood supply to the skin, although it is well known their negative effect in wound healing.

Our objective is to know the histopathologic effect of steroids in burn healing. We used 2 groups of 10 rats (Wistar). Both groups were exposed in their backs to a metallic cylinder at 95 °C for 15 seconds. At the moment of the burn, one group was given steroid (hydrocortisone at stress dose 5 mg/kg) and the other group didn't received any medication. The scar was removed at the 5th day and the burn injury was covered with keratinocyte culture. The rats were sacrificed at 14th day. We evaluated the presence of clinical signs of infection and the percentage of new epithelium. In the microscope we evaluated the following parameters: fibrosis, inflammatory process, presence of fibroblast and vascular proliferation. We compared both groups using Chi² test (SPSS program version 10). A $p \leq 0.05$ was considered as statistical significant.

We found no difference between each group in fibrosis (p .47), inflammatory process (p .27), or fibroblast presence (p .16). But there was a difference in vascular proliferation (p .05) against the first group (steroid group). There were no signs of infection and all of them were epithelised at the 14th day.

In conclusion, the use of steroids in burns in an animal model could have a final effect in wound healing. In humans it is important to say that they can be helpful in those cases with clear evidence of benefit, as for example failure to vasopressor response in septic shock. We are not sure about the final effect in wound healing in the steroid group as for example wound contracture in long term.

Key words Burns, Healing, Steroids.

Numerical Code 154-153

* Médico Residente. Departamento de Cirugía Plástica y Reconstructiva Hospital Civil Fray Antonio Alcalde, Guadalajara, Jalisco. México.
** Jefe de Docencia. Departamento de Cirugía Plástica y Reconstructiva Hospital Civil Fray Antonio Alcalde, Guadalajara, Jalisco. México.
*** Cirujano plástico. Unidad Infantil de Quemados Hospital Civil Nuevo de Guadalajara Juan I. Menchaga, Guadalajara, Jalisco. México.
**** Jefe del Departamento de Cirugía Experimental CIBO IMSS.
***** Médico pasante.
***** Jefe de la Unidad Infantil de Quemados Hospital Civil Nuevo de Guadalajara Juan I. Menchaga, Guadalajara, Jalisco. México.

Introducción

El uso de esteroides en cuidados intensivos está bien reconocido en casos de choque séptico refractario a vasopresores (1-5). Existen algunos informes acerca de su utilidad en terapia intensiva en pacientes quemados. Parece ser que mejoran el aporte sanguíneo a la piel reduciendo la dosis necesaria de vasopresores (6,7), aunque no existen estudios sobre el efecto que pueden tener en la cicatrización de la quemadura en este tipo de pacientes.

El propósito de este estudio es evaluar el efecto del uso de esteroides a dosis de estrés, usando un modelo animal de quemadura.

Material y método

Realizamos un estudio descriptivo y comparativo en animales, 20 ratas raza Wistar, de 500 gr. de peso, machos (Fig. 1), cautivos de acuerdo a la norma mexicana en una unidad especializada (NOM-062-ZOO-1999). El anestésico usado fue pentobarbital a dosis de 40 mg/kg de peso intraperitoneal. Tras rasurar el área dorsal del animal, colocamos un cilindro metálico durante 15 segundos (75 gr. de peso, 2 cm. de diámetro, a 95° C.). Se estimó un área de quemadura del 10% de la superficie corporal del animal (Fig. 2 y 3). Antes del estudio, practicamos quemaduras de diferentes formas en 5 animales para conocer el tiempo y la relación con la profundidad de la quemadura. Encontramos que con 15 segundos de exposición podíamos tener una quemadura de segundo grado. Los animales del estudio se dividieron en 2 grupos: un grupo tratado con hidrocortisona, 5 mg/kg en 200 microlitros de solución salina como única dosis intravenosa (9); el otro grupo no recibió medicamento. Terminada la intervención, todos los animales tuvieron acceso libre a comida y agua. El analgésico usado fue buprenor-



Fig. 1. Grupo de animales anestesiado, antes de practicar la quemadura y de administrar el esteroide sistémico.



Fig. 2. Calentando el cilindro con agua a 95° C.



Fig. 3. Momento de practicar la quemadura; colocamos el cilindro a 95° C durante 15 segundos en el dorso del animal.

fina (0.1 mg/kg de peso, vía subcutánea) durante 5 días. Al quinto día, resecamos la escara y cubrimos el defecto con cultivo de queratinocitos (Fig. 4 y 5) (10). El pentobarbital se usó tal y como hemos comentado previamente.

Todos los animales fueron sacrificados con sobredosis de pentobarbital (45 mg/kg de peso) y evaluamos la presencia de infección y el porcentaje de epitelización (Fig. 6). El porcentaje de epitelización se avaluó como del 100%, del 50 al 100% y menor del

50%. La presencia de infección se evaluó como presente o ausente, de manera clínica y con datos de infección como eritema, calor o presencia de secreción purulenta. La piel y el tejido subcutáneo se enviaron a estudio histopatológico, siendo procesados en bloques de parafina y usando tinciones de eosina y hematoxilina. La patóloga evaluó cada uno de los especímenes sin saber cuál de ellos habría estado expuesto al esteroide. Consideró la presencia de infiltrado de mononucleares, linfocitos, fibroblastos y de proliferación endotelial, para evaluar subjetivamente la fibrosis, la presencia de fibroblastos y la inflamación como leve, moderada o severa. Evaluó también la proliferación vascular como presente o ausente. El análisis estadístico se hizo mediante la prueba de Chi², usando la versión 10 del software SSPS, considerándose como significativa una $p \leq .05$.

Resultados

No encontramos datos de infección y el sitio de la quemadura estaba epitelizado al 100% al día 14 de la quemadura. Tampoco encontramos diferencia en inflamación (p.47), fibrosis (p.16) y presencia de fibroblastos (p.27); pero sí encontramos diferencia estadísticamente significativa en cuanto a proliferación vascular (p.05) en



Fig. 4. Escara bien formada al quinto día, minutos antes de practicar la escarectomía, con el animal ya anestesiado.

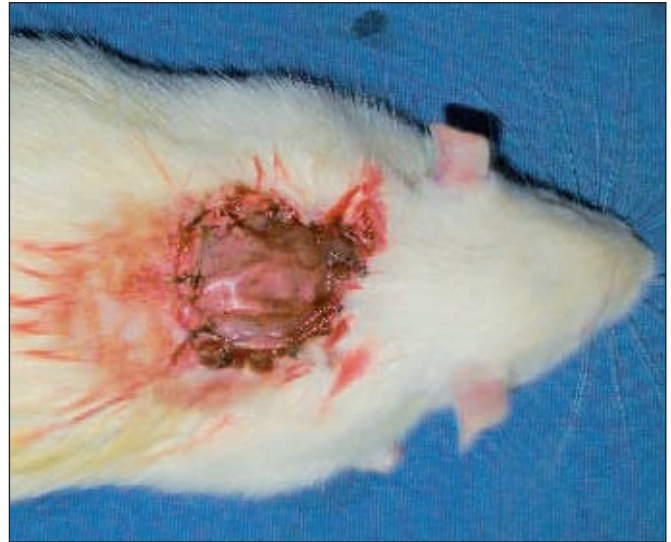


Fig. 5. Aspecto del dorso del animal tras la escarectomía con la aplicación y fijación del cultivo de queratinocitos.



Fig. 6. Día 14, antes del sacrificio de los animales: nótese la ausencia de infección y la presencia de epitelio.

contra del primer grupo en el cual se habían empleado los esteroides (Tabla I). Dos ratas murieron por sobredosis anestésica.

Discusión

El uso de esteroides es controvertido. Está reconocido su efecto antiinflamatorio y también el efecto hemodinámico que puede ser útil para disminuir la dosis de vasopresores necesarios ante un choque séptico refractario. Existen algunos trabajos acerca de su utilidad en pacientes quemados sépticos (6). Sería importante conocer, en aquellos pacientes que sobrevivieron, las características y la evolución de la piel quemada aunque obviamente, lo más importante es mantener al paciente vivo en estas circunstancias.

En nuestro estudio, inicialmente pensamos que el efecto del medicamento se vería reducido o no existiría diferencia debido a que se trataba de organismos que nunca habían sido expuestos a este tipo de medicamento y a los que solo se les administraba una dosis. Pero desafortunadamente encontramos una diferencia en la proliferación vascular, posiblemente en contra del primer grupo de animales de experimentación, es decir, aquel al que se le habían administrado los esteroides tras la quemadura. Es bien conocido el efecto negativo de estos medicamentos sobre la cicatrización. La respuesta celular se inhibe, así como otros procesos como por ejemplo la fa-

Tabla I. Diferencia entre los 2 grupos de estudio

	INFLAMACION	FIBROSIS	PRESENCIA FIBROBLASTOS	PROLIFERACIÓN VASCULAR
GRUPO 1	LEVE 5 MODERADA 3 SEVERA 2	LEVE 1 MODERADA 9 SEVERA 0	LEVE 1 MODERADA 9 SEVERA 0	AUSENTE 4 PRESENTE 6
GRUPO 2	LEVE 3 MODERADA 4 SEVERA 1	LEVE 7 MODERADA 1 SEVERA 0	LEVE 0 MODERADA 8 SEVERA 0	AUSENTE 6 PRESENTE 2
	p .497	p.16	p.27	p .05

Encontramos diferencia en el parámetro observado al microscopio de proliferación vascular p.05 (usando Chi2), lo cual puede estar en contra del grupo en el que empleamos esteroides sistémicos.

gocitosis y el efecto lisosomal (11, 12). El uso de esteroides puede ser útil en aquellos casos en los que prevenimos que pueden aportar un claro beneficio (choque séptico que no responde a vasopresores), pero sería importante para el futuro de estos pacientes considerar también los posibles efectos a corto y largo plazo que pueden ejercer sobre el proceso de cicatrización, ya que frecuentemente tenemos ingresos hospitalarios de pacientes con quemaduras de gran extensión referidos desde hospitales de primer o segundo nivel ya en estado de choque, que no responden a vasopresores, y en los que consideramos necesario desarrollar el siguiente estudio.

Es bien sabido que se necesita más de un 20% de superficie corporal total quemada para desencadenar un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica con alteraciones en el metabolismo del cortisol y en el sistema hipotálamo-hipofisario. Existen algunos artículos en la literatura médica acerca del fallo de estos sistemas y su relación con una mayor mortalidad (13). Probablemente el uso de esteroides puede ser útil en estos casos. El Comité de Bioética de nuestra institución no permite practicar quemaduras de mayor porcentaje, por lo que con la superficie quemada empleada en este estudio no podemos desencadenar un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica; si bien la información que obtuvimos nos permitió evaluar el efecto de estos medicamentos en el proceso de cicatrización. Empleamos para ello una dosis única de esteroide y la ruta de administración acorde con estudios previos hechos en ratas (9).

Basándonos en estudios previos sobre 5 ratas encontramos que el quinto día postquemadura es el mejor momento para extirpar la escara, ya que es cuando se encuentra más definida también la profundidad de la quemadura, lo cual permite una mejor visualización al microscopio.

Debemos mencionar que existen efectos adversos con el empleo de esteroides a dosis de estrés en humanos, tales como sangrado gastroduodenal, infección y debilidad neuromuscular, lo cual no se produjo en los animales de nuestro grupo de estudio (1-5).

Conclusiones

En el caso de quemaduras de segundo grado profundo en modelo animal (ratas Wistar) comparando el empleo de esteroides sistémicos, no encontramos diferencia ni a favor ni en contra en cuanto los siguientes parámetros: infección, porcentaje de epitelización, fibrosis, proceso inflamatorio y cuenta de fibroblastos. La única diferencia la encontramos en la proliferación vascular en contra del grupo en el que se administraron esteroides en el momento de la quemadura. No estamos seguros del significado de este hallazgo en el proceso de cicatrización a largo plazo o de si puede predisponer a un grado mayor de contracturas primarias o secundarias o a alguna otra alteración posterior en el proceso de cicatrización de los pacientes.

El uso de esteroides es bien conocido en casos de choque séptico que no responde a vasopresores. Obviamente es más importante mantener al paciente vivo. También es importante tener en cuenta otros efectos adversos en el ser humano cuando empleamos estos medicamentos en el paciente quemado en la Unidad de Cuidados Intensivos, como sangrado del tubo digestivo, predisposición a infecciones y debilidad neuromuscular.

Dirección del autor

Dr. Guillermo Ramos Gallardo
Departamento de Cirugía Plástica y Reconstructiva
Hospital Civil Fray Antonio Alcalde
Calle Hospital # 278.
Código Postal 44280.
Guadalajara, Jalisco, México.
e-mail: guiyermoramos@hotmail.com

Bibliografía

1. **Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T and cols.:** Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 2008; 36(1): 296.
2. **Sligl W, Milner D, Sugantha S and cols:** Safety and efficacy of corticosteroids for the treatment of septic shock: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49: 93.
3. **Annane D, Bellissant E, Bollaert P and cols.:** Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: a systematic review. *JAMA* 2009; 301(22): 2362.
4. **Sprung C, Goodman S, Weiss Y:** Steroid therapy of septic shock. *Critical Care Clin* 2009; 25: 825.
5. **Aire B, Groeneveld J, Molenaar N, Beishuizen B.:** Current Opinion in Critical Care 2008; 14:384.
6. **Fuchs PCh, Bozkurt A, Johnen D, and cols.:** Beneficial effect of corticosteroids in catecholamine-dependent septic burn patients. *Burns* 2007; 33 (3): 306.
7. **Winter W, Kamolz L, Donner A, Hoerauf K, Blaicher A, Andel H.:** Hydrocortisone improved haemodynamics and fluid requirements in surviving but not non-surviving of severely burned patients. *Burns* 2003; 29: 717.
8. **Wong J.:** Laboratory Animal Care Policies and Regulations: Canada. *ILAR J.* 1995; 37(2):57.
9. **Sun W., Watanabe Y., Toki A. and Wang Z.:** *Chinese Medical Journal* 2007; 120(20):1757.
10. **Pham C, Greenwood J, Cleland H, Woodruff P, Madden G.:** Bioengineered skin substitutes for the management of burns: A systematic Review. *Burns* 2007; 33: 946.
11. **Broughton G, Janis J E, Attinger CE.:** Wound healing: an overview. *J. Plast Rec.* 2006: 1eS.
12. **Hunt J, Purdue G, Zbar R.:** Burns, acute burns, burns surgery and postburn reconstruction. En: *Selected Readings in Plastic Surgery.* 2000, 9: 12.
13. **Fuchs P, Groger A, Bozkurt A and cols.:** Cortisol in severely burned patients: investigations on disturbance of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Shock* 2007; 28 (6): 662.