

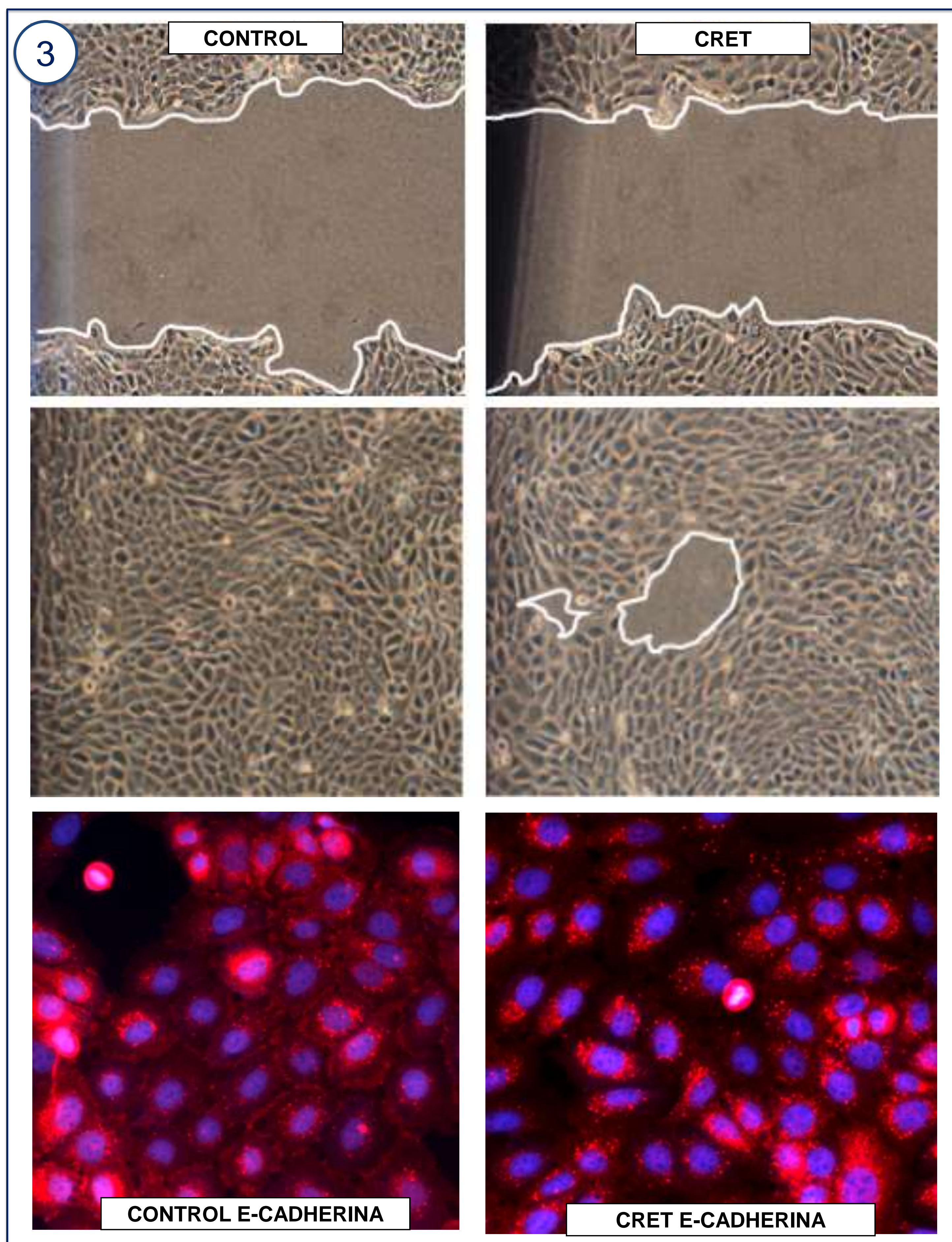
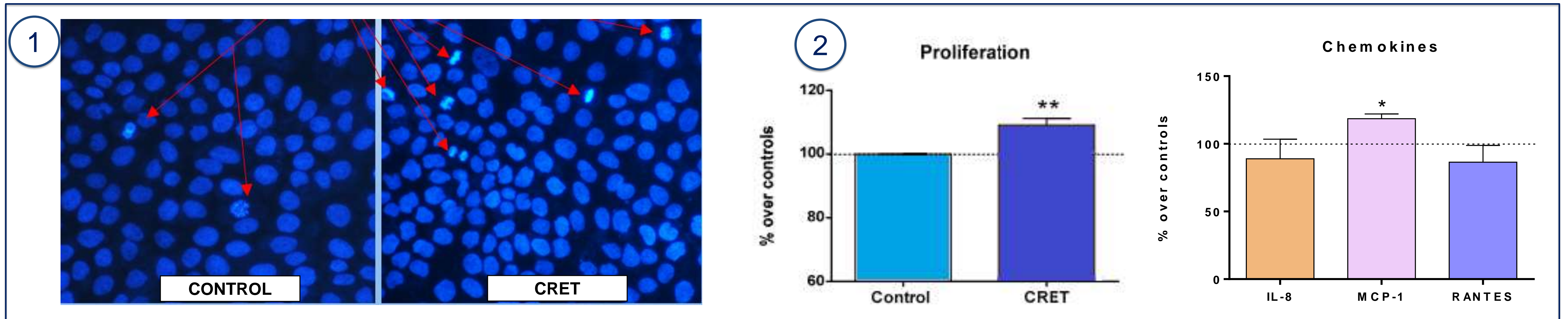
EFFECTOS ANTIINFLAMATORIOS Y REGENERATIVOS DE LA TERAPIA CRET EN HERIDAS CUTÁNEAS: ESTUDIO IN VITRO EN QUERATINOCITOS Y FIBROBLASTOS HUMANOS

Luis Alfonso Pérez González^{1,2}, María Antonia Martínez Pascual², Elena Toledano Macías², María González Ramos, Jorge Naharro Rodríguez¹, Francisco Javier Pérez Bootello¹, María Luisa Hernández Bule²

1. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Servicio de Dermatología
2. Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRyCIS). Laboratorio de Bioelectromagnetismo.

Introducción: La cicatrización es un proceso complejo en el que intervienen inflamación, proliferación y migración celular. La práctica clínica ha mostrado que la terapia no invasiva por transferencia eléctrica capacitiva resistiva CRET (Capacitive and resistive electric transfer) puede mejorar la cicatrización en pacientes con heridas de evolución tórpida, mejorando la migración de queratinocitos, fibroblastos y células madre a la zona dañada. Los queratinocitos y fibroblastos a su vez sintetizan citoquinas capaces de regular el proceso inflamatorio y dicha migración celular.

Objetivos: Estudiar el efecto de CRET en procesos de proliferación, inflamación y migración de queratinocitos (HaCaT) y fibroblastos (HF) humanos.



Métodos: Cultivos de queratinocitos y fibroblastos humanos (HaCat y HF) se trataron en subtermia 5 min cada 4 horas (100 μ A/mm²; 448 KHz; Equipo: ELITE NS, INDIBA S.A) durante 48 horas. Como controles, se sembraron cultivos de ambos tipos celulares, que se mantuvieron en idénticas condiciones, pero no fueron tratados eléctricamente. En HF y HaCat se realizaron estudios de proliferación (XTT), de cierre de herida (WA) y de inmunofluorescencia para proteínas de adhesión y migración (β -catenina, E-cadherina y vimentina). Finalmente, en HaCat se realizó cuantificación de citoquinas (IL-8, MIP-1, MCP-1 y RANTES) mediante ELISA

Resultados:

El grupo tratado con CRET mostró un **aumento de la proliferación** respecto a controles, estadísticamente significativo, en ambos tipos celulares.

- **Figura 1:** El marcaje nuclear con DAPI muestra mayor densidad celular y mayor número de mitosis (flechas rojas) en el grupo tratado con CRET

La **MCP-1** mostró un **aumento de expresión del 19%** respecto a controles, estadísticamente significativa. Por el contrario, la expresión de **IL-8 y RANTES se redujo un 11% y 14%** respectivamente respecto a controles sin alcanzar significación en el análisis estadístico. **No se detectaron diferencias significativas en la expresión de MIP-1.**

- **Figura 2:** Comparación porcentual de la variación de la expresión de IL-8, MCP-1 y RANTES respecto a control (representado por el 100%)

El ensayo WA reveló una **aceleración de la migración de HF**, mientras que los queratinocitos se **ralentizaron** respecto a controles

El grupo tratado mostró **disminución de β -catenina, E-cadherina en la membrana y aumento de vinculina** que se correlacionaron con los resultados en el test de cierre de herida en HF y en HaCaT.

- **Figura 3:** Ensayo de cierre de herida con HaCaT muestra cierre ralentizado en el grupo tratado con CRET. La inmunofluorescencia para E-cadherina muestra una redistribución hacia el citoplasma con disminución en membrana en el grupo tratado con CRET.

Conclusiones: La terapia CRET mejora la proliferación celular, reduce los niveles de citoquinas proinflamatorias (IL-8 y RANTES) y aumenta los niveles de MCP-1 que a su vez aumenta la expresión de interleucina 4 (IL-4) ejerciendo un efecto antiinflamatorio y mejorando la cicatrización.

La disminución de β -catenina y E-cadherina acelera la migración en HF y ralentiza la de HaCaT. Ese comportamiento diferente se debe al distinto mecanismo de migración celular que tienen los dos tipos celulares: Las HaCaT migran de forma agrupada o "en migración colectiva" de manera que la disminución de cadherinas y cateninas en membrana inducida por la CRET reduce la adhesión celular y por tanto la capacidad migratoria. En HF la migración se realiza de forma individual por lo que la pérdida de adhesión intercelular favorece la migración. En el caso de la vimentina, su aumento de expresión favorece la migración tanto en HaCaT como en HF. El comportamiento diferencial de queratinocitos y fibroblastos facilita un cierre de herida eutrófico "de superficial a profundo" con resultados estéticos y funcionales potencialmente mejores.

Bibliografía



BIBLIOGRAFÍA