INJERTOS DE QUERATINOCITOS AUTOLOGOS CULTIVADOS EN SUERO AUTOLOGO: ESTUDIO MULTICENTRICO EN BOGOTA

INVESTIGADORES PRINCIPALES

Jennifer Gaona Silva
Rodrigo Foción Soto Pareja

CO-INVESTIGADORES

Juan Carlos Zambrano Burgl
Yuli Guzmán Prado
Marcela Arias Rincón

INTRODUCCION

- COSTO EFECTIVIDAD
- RESULTADOS PREDECIBLES
- BAJA MORBILIDAD
- AUSENCIA DE CICATRIZ EN AREA DONANTE
- COSTOS
- COBERTURA: CICATRIZ POR SEGUNTA INTENCION, INJERTOS DE PIEL PARCIAL
- NOVIEMBRE 2009: ESTANDARIZACION DE CULTIVOS

Zambrano JC, Nieto LE, Gaona J. Revista Colombiana de Cirugía Plástica y Reconstructiva. 2009; 15 No 2: 43 – 47.

Cuono CB, Langdon R, Birchall N, Barttelbort S, McGuire J Composite autologous-allogeneic skin replacement: development and clinical application. Plast Reconstr Surg 1987;80(4):626–37.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es la efectividad de los injertos de queratinocitos cultivados en suero autólogo, para la cobertura de áreas cruentas con indicaciones de injertos de piel parcial?

MARCO TEORICO

QUERATINOCITO

- Derivados del ectodermo embrionario
- Célula predominante de la epidermis (90-95%).
- Producción de queratina y de citocinas pro inflamatorias.
- Expresión de moléculas de adhesión intercelular y moléculas inmunitarias reactivas de superficie.
- Ciclo de multiplicación celular: 100 horas.

Eichenfield LF, Frieden IJ, Esterly NB. Neonatal Dermatology. Second Edition. Saunders Elsevier, 2008: 1-3.

Canby Craig A. Anatomía basada en la resolución de problemas. Elsevier España, 2007: 239-240.

Lorenzo Tapia, Francisco. TCAE en la unidad de quemados. Publicaciones Vértice. Pág 33-34.

MARCO TEORICO

ESCALERA RECONSTRUCTIVA

1. Cicatrización por segunda intención.
2. Injertos de Piel Parcial
3. Sustitutos cutáneos.
4. Injertos de piel total.
5. Colgajos de vecindad cutáneos y/o compuestos.
6. Colgajos a distancia
7. Colgajos a distancia micro-vasculares.

MARCO TEORICO

METODO DE COBERTURA IDEAL

- Definitivo
- Deja mínimas cicatrices
- No requiere áreas donantes extensas
- No tiene comorbilidades.
- Resultados óptimos: aspecto y elasticidad de la piel.
- Económico.
- Disponible para cobertura en etapa aguda.

MARCO TEORICO

Estándar de Oro en el manejo de áreas cruentas extensas: Injerto de piel parcial: integración: 80-100%

Estudio	Revista	Integración
Experience with elastic rubber bands for the tie-over dressing in skin graft	Burns 32 (2006) 212–215	88
Should dermal scald burns in children be covered with autologous skin grafts or with allogeneic cultivated keratinocytes?—"The Viennese concept"	Burns 31 (2005) 578–586	100
A randomised controlled trial of a double layer of Allewynä compared to Jellonet and proflavin as a tie-over dressing for small skin grafts	Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery (2008) 61, 535e539	91
Full thickness skin graft cover for lower limb defects following excision of cutaneous lesions	Dermatology on Line Journal	80
	Promedio	89,75

MARCO TEORICO

En **1975**, **Rheinwald y Green** desarrollaron un método para cultivar queratinocitos a partir de una muestra pequeña de células y desde entonces se han usado numerosas técnicas para el cultivo de las mismas, predominantemente en pacientes quemados.

Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* 1975; 6(3): 331-343
Haslik W, Kauloz L, Lumenta D.B, Hladik M, Beck H, Frey M. The treatment of deep dermal hand burns: How do we achieve better results? Should we use allogenic keratinocytes or skin grafts? *Burns* 2010; 36 329-34

MARCO TEORICO

Existen diversos reportes en la literatura de cultivos de queratinocitos en la construcción de parches regenerativos de piel y la mayoría son con células tomadas de **donantes** de **cadáveres** (heterólogo) cultivados en **suero fetal bovino**, lo que implica realizar múltiples estudios tanto al donante como al receptor, lo cual hace que el producto sea muy costoso e inviable en países en vía de desarrollo

Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* 1975; 6(3): 331-343

Mcheik J.N, Barrault C., Bernard F.X, Levard G. Quantitative and qualitative study in keratinocytes from foreskin in children: perspective application in paediatric burns. *Burns* In Press

Se ha evidenciado que los cultivos autólogos se pueden demorar en su **fabricación de 15 días a 4 semanas**, reportando como desventajas la demora en su fabricación, la fragilidad del parche (requiriendo completa inmovilización del paciente), la vulnerabilidad hacia las infecciones e inconsistencias en su integración.

Mcheik J.N, Barrault C., Bernard F.X, Levard G. Quantitative and qualitative study in keratinocytes from foreskin in children: perspective application in paediatric burns. Burns In Press

Scuderi N, Onesti M, Bistoni G, Ceccarelli S, Rotolo S, Angeloni A, Marchese C. The clinical application of autologous bioengineered skin based on a hyaluronic acid scaffold. Biomaterials. 29 (2008) 1620 – 1629

Bishara S, Costagliola M. Cultures epithelial autograft (CEA) in burn treatment: Three decades later. Burns 33 (2007) 405 – 413

Bannasch H, Horch R.E., Stark G. Transplantation of cultured autologous keratinocytes in fibrin sealant biomatrix to resurface chronic wounds. Transplantation Proceedings 33, (2001) 642 -644

MARCO TEORICO

En el **2009** se logró la estandarización de cultivos de queratinocitos autólogos con suero autólogo para cubrimiento de áreas cruentas con adecuado **crecimiento y proliferación celular en 4 días** evitándose la senescencia de los queratinocitos y sin la necesidad de usar células o proteínas animales, resolviendo el problema de transmisión de enfermedades y reduciendo los tiempos y costos de producción y almacenamiento

PROPOSITO

Verificar la utilidad de los Injertos de Queratinocitos cultivados en suero autólogo como una alternativa de tratamiento eficaz para la cobertura de áreas cruentas, candidatas a injertos de piel parcial en 4 instituciones de salud en Bogotá.

OBJETIVO GENERAL

Describir los resultados del uso de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo para cobertura de áreas cruentas en pacientes con indicaciones de uso de injerto de piel parcial.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el **porcentaje de epitelización** de las áreas cruentas cubiertas con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo según *etiología, área corporal y tamaño*
- Estimar el **tiempo** y porcentaje de integración de queratinocitos autólogos en suero autólogo en áreas cruentas.
- Analizar el **impacto** de las comorbilidades, el tamaño del área cruenta, la localización, la edad y el género de cada paciente sobre el porcentaje de integración de queratinocitos autólogos en suero autólogo en áreas cruentas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la existencia o no de **complicaciones** secundarias a la aplicación de los apósitos de queratinocitos autólogos en suero autólogo en áreas cruentas.
- Establecer la existencia o no de variables relacionadas con los **procesos** de recolección de muestras, fabricación y aplicación de queratinocitos autólogos en suero autólogo para cobertura de áreas cruentas.

METODOLOGIA

DISEÑO DE LA INVESTIGACION

Estudio observacional descriptivo de seguimiento de pacientes con áreas cruentas con indicación de injerto de piel parcial tratados con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo

METODOLOGIA

Tiempo:

2 semanas

7 días

3 meses

P. PILOTO

ESTUDIO

METODOLOGIA

HIPOTESIS CONCEPTUAL

El uso de injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo, son un **tratamiento efectivo y eficaz** para la cobertura de áreas cruentas en pacientes con indicación de injertos de piel parcial.

METODOLOGIA

HIPOTESIS OPERACIONAL

- **Ho:** El área cruenta no presenta cambios antes y después de ser cubierta con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo

$$\mathbf{H_0: A_1 = A_2}$$

- **H1:** El área cruenta se reduce después de ser cubierta con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo

$$\mathbf{H_A = A_1 < A_2}$$

METODOLOGIA

POBLACION DIANA

Pacientes **programados** para cobertura de áreas cruentas con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo.

MARCO MUESTRIAL

Pacientes mayores de 14 años registrados en las listas de programación de salas de cirugía, o de curación, para la cobertura de áreas cruentas con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo, en el Hospital Simón Bolívar, Clínica de la Policía, Instituto de Ortopedia Infantil Roosevelt y Hospital San Ignacio

METODOLOGIA

MUESTRA

Se realizo un **muestreo no probabilístico secuencial o consecutivo**, de los pacientes mayores de 14 años con áreas cruentas de cualquier etiología, candidatos a manejo con injertos de piel de espesor parcial, tratados con injerto de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo, que ingresaron a las instituciones participantes, en un periodo de 3 meses, que cumplieran con los criterios de selección establecidos y aceptaron voluntariamente participar en el estudio.

METODOLOGIA

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se considero la realización de injertos en aproximadamente 80 pacientes, en diferentes áreas corporales, estimando la frecuencia de dicho procedimiento en la Unidad de Quemados del hospital Simón Bolívar para el tiempo que comprende el desarrollo del estudio

METODOLOGIA

CRITERIOS DE SELECCIÓN

INCLUSION: Pacientes mayores de 14 años con áreas cruentas cubiertas con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo por primera vez y que tenían indicación para injerto de piel parcial:

- Área cruenta bien vascularizada
- Área cruenta sin signos de infección dados por eritema, edema o secreción
- Área cruenta sin exposición de material de osteosíntesis, óseo ni cartilaginoso grandes vasos o nervios, viseras, hueso sin periostio, tendón sin paratenon.
- Área cruenta no localizada en área de flexión, extensión y zonas de apoyo

METODOLOGIA

CRITERIOS DE SELECCIÓN

EXCLUSION

- Pacientes con **alteraciones mentales** que puedan llevar a alterar el proceso de integración de la lamina de queratinocitos: Epilepsia, Trastornos psiquiátricos o Retardo Mental
- Pacientes con condiciones **difíciles** para realizar el **seguimiento** de integración y cicatrización del área cruenta posterior a la aplicación del injerto : Habitantes de Calle, pacientes sin teléfono o lugar estable de vivienda
- Se excluirán del estudio aquellos pacientes **tratados** con injertos de queratinocitos cultivados en suero autólogo que hayan sido tratados con esta técnica a pesar de **no cumplir con los criterios** de inclusión
- Pacientes que **no autoricen** la realización del procedimiento o el seguimiento

METODOLOGIA

FUENTES DE INFORMACION Y TECNICAS DE RECOLECCION

1. Consentimiento informado para pacientes entre 14-18 años (ANEXO 1)
2. Consentimiento informado para pacientes mayores de 18 años (ANEXO 2)
3. Formato de Registro de datos para seguimiento: Lado A y B (ANEXO 3)

METODOLOGIA

CALIDAD DEL DATO Y CONTROL DE SESGO

ERRORES	DESCRIPCIÓN	FORMA DE CONTROL
Observador	Deficiencia al cuantificar el área cruenta	Se realizara medición en cm del área cruenta y el área se cuantificara por métodos geométricos

METODOLOGIA

CALIDAD DEL DATO Y CONTROL DE SESGO

SESGOS	DESCRIPCIÓN	FORMA DE CONTROL
Selección	Basado en la revisión de la literatura, es de conocimiento general que los injertos de queratinocitos son más sensibles que los injertos de piel; por lo cual es posible que los cirujanos plásticos elijan como método de cobertura con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo a pacientes con áreas cruentas más aptas (quemaduras no tan profundas, mayor vascularización, menor área...) que si fueran a colocar un injerto de piel.	No es controlable por las características del estudio, dado que no hay grupo de comparación y no se realizo aleatorización

METODOLOGIA

PLAN DE ANALISIS

Se utilizo como **variable dependiente** los datos registrados al día 30. Los porcentajes documentados en los días previos al desprendimiento de la lámina fueron determinados por el porcentaje de integración de la misma; y el valor final fue dado por el porcentaje de epitelización del área cruenta, observado al caer la lámina. En los casos en los cuales la lamina se desprendió en los controles al día 7 o 15, el porcentaje observado permaneció igual en los siguientes controles

Software

Los datos fueron analizados con SPSS versión 18.

METODOLOGIA

PLAN DE ANALISIS

OBJETIVO ESPECIFICO	ANÁLISIS
Estimar el porcentaje de epitelización de las áreas cruentas cubiertas con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo según etiología, área corporal y tamaño	Medidas de frecuencia Agrupación según profundidad del área cruenta, etiología, área corporal y tamaño
Estimar el tiempo y porcentaje de integración de queratinocitos autólogos en suero autólogo en áreas cruentas.	Medidas de frecuencia, mediana, promedio, mínimo máximo y desviación estándar
Analizar el impacto de las comorbilidades, el tamaño del área cruenta, la localización, la edad y el género de cada paciente sobre el porcentaje de integración de queratinocitos autólogos en suero autólogo en áreas cruentas.	Agrupación de áreas cruentas según profundidad, localización corporal, tamaño y antecedentes patológicos. Análisis comparación de medias Análisis no paramétrico por medio de pruebas KW y MW, según el n

METODOLOGIA

PLAN DE ANALISIS

Determinar la existencia o no de complicaciones secundarias a la aplicación de los apósitos de queratinocitos autólogos en suero autólogo en áreas cruentas	Medidas de frecuencia
Establecer la existencia o no de variables relacionadas con los procesos de recolección de muestras, fabricación y aplicación de queratinocitos autólogos en suero autólogo para cobertura de áreas cruentas.	Agrupación según el tiempo transcurrido entre la toma de la Biopsia y la aplicación del injerto. Estadísticos descriptivos de frecuencia Análisis no paramétrico por medio de pruebas como KW Y MW, según el n

METODOLOGIA CONSIDERACIONES ETICAS Y CONFIDENCIALIDAD

- Investigación con Riesgo Mínimo.
- Proyecto sometido al comité de ética e investigación.
- Formato de consentimiento informado.
- Este estudio tiene como esencia contribuir al avance científico y mejoramiento en la atención en salud de los pacientes, por tanto se fundamenta en el respeto a su dignidad y confidencialidad de la información obtenida

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS DE LA POBLACION

- **Cohorte Inicial:** 47 pacientes
- **Final:** 44 pacientes : 78 áreas cruentas
- **Mujeres:** 17 **Hombres:** 27
- **Edad:** 15 - 75 años Media de 36.50 ± 16.73
Mediana: 30.

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS DE LA POBLACION

Antecedentes Patológicos: 11 Pacientes

HTA (n=3), Migraña (n=2), Epilepsia, Cáncer de Próstata, Cáncer de cérvix, Dispepsia, Asma y Hipotiroidismo

No se encontró diferencia significativa en el porcentaje de epitelización entre los pacientes con y sin antecedentes patológicos ($p=0.612$, MW).

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS DE LA POBLACION

- **No** se encontró diferencia significativa entre el porcentaje de epitelización según el **género** por paciente ($p=0.097$, MW) ni por **áreas** ($p=0.077$, MW)
- Se encontró correlación inversa no significativa entre la **edad** y el **porcentaje de epitelización** (res = $-.194$ $p=0.089$, Sperman) la cual disminuyo al realizar ajuste por profundidad del área cruenta (rs = $-.115$ $p=0.321$, Sperman).

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DE LAS AREAS CRUENTAS

Promedio de epitelización: **53.16%±46.46%** (mediana 52.75%).

Se encontró diferencias significativas del porcentaje de epitelización y la profundidad del área cruenta ($p < 0.001$, KW), siendo mayor a menor grado de profundidad

QUEMADURA	PROMEDIO	MEDIANA	DESVIACION St.	MINIMO	MAXIMO	N
IIA	100.00	100.00	.000	100	100	8
IIB	62.79	100.00	43.915	0	100	39
III	27.52	.00	41.726	0	100	24
OTRAS	33.86	.00	47.161	0	100	7
TOTAL	53.16	52.75	46.463	0	100	78

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DE LAS AREAS CRUENTAS

Tamaño promedio de las áreas: $111.78\text{cm}^2 \pm 175.13\text{cm}^2$

Rango 2-835cm² y Mediana de 41.00cm²: Agrupación en cuartiles:

1. 0-9.75 cm² (n=19)
2. 9.76-41cm² (n=20)
3. 41.1-108.75cm² (n=20)
4. 108.76-835cm² (n=19).

Se encontró diferencia significativa del porcentaje de epitelización con relación al tamaño del área cruenta y a la profundidad de la quemadura ($p=0.001$, KW), siendo mayor las medianas para las quemaduras IIA con un tamaño entre 0-9.75cm² con un promedio de epitelización del 100% y el menor en las quemaduras grado III para todos los tamaños con un porcentaje de epitelización promedio del 5.0% con una mediana de 0

RESULTADOS

Promedio de Epitelización relacionando grado de profundidad y tamaño del área cruenta

QUEMADURA - TAMAÑO	PROMEDIO	N	DESVIACION ESTANDAR	MINIMO	MAXIMO	MEDIANA
IIA:0-9.75	100.00	4	.000	100	100	100.00
IIA:9.76-41	97.14	7	7.559	80	100	100.00
IIA:41.1-108.75	75.00	8	46.291	0	100	100.00
IIA:108.76-836	52.84	16	49.329	0	100	72.75
IIB:9.76-41	54.57	18	46.389	0	100	65.00
IIB:108.75-836	56.82	10	40.664	0	100	45.59
III:0-9.75	5.00	4	10.000	0	20	.00
III:108.76-836	5.05	10	10.871	0	30	.00
OTROS:108.76-836	.00	1	.	0	0	.00
Total	53.16	78	46.463	0	100	52.75

RESULTADOS

CLASIFICACION POR AREA CORPORAL

Las áreas cruentas se clasificaron según su ubicación en 4 grupos: **Extremidad Superior**, **Extremidad Inferior**: n=34, **Tronco** y **Cara**: n=3

Epitelización promedio: $53.16 \pm 46.46\%$ n=78 y mediana de 52.78%..

IIA : Promedio de epitelización 100% para los 4 grupos.

IIB : Promedio de epitelización fue mayor para las áreas en cara (95% n=2), y menor en extremidad Inferior (51.76% n=11).

III: El mayor porcentaje de epitelización fue para las áreas localizadas miembro superior (100% n=4) y el menor en Tronco del 0%, no se reportaron casos en cara.

Otras: avulsión en cara 100% (n=1), extremidad Inferior 34.25% (n=4) y tronco 0%

RESULTADOS

Se encontró una diferencia significativa entre la interacción de las medianas del porcentaje de epitelización entre área corporal y grado de quemadura ($p < 0.001$ KW) siendo mayor para la quemaduras IIA en todas las áreas, IIB en cara, III en tronco y otras en cara; y el menor porcentaje de epitelización en las quemaduras grado III y áreas cruentas de otras etiologías ubicadas tronco

RESULTADOS

Medidas descriptivas del porcentaje de Epitelización – Interacción entre Área Corporal y Profundidad

AREA - QUEMADURA	PROMEDIO	N	DESVIACION St	MINIMO	MAXIMO	MEDIANA
E.SUPERIOR-IIA	100.00	3	.000	100	100	100.00
E.SUPERIOR-IIB	52.63	19	48.516	0	100	50.00
E.SUPERIOR-III	100.00	4	.000	100	100	100.00
E.INFERIOR-IIA	100.00	2	.000	100	100	100.00
E.INFERIOR-IIB	61.72	11	39.568	0	100	55.50
E.SUPERIOR-III	15.32	17	29.820	0	100	.00
E.SUPERIOR-OTROS	34.25	4	47.176	0	100	18.50
TRONCO-IIA	100.00	3	.000	100	100	100.00
TRONCO-IIB	82.86	7	37.289	0	100	100.00
TRONCO-III	.00	3	.000	0	0	.00
TRONCO-OTROS	.00	2	.000	0	0	.00
CARA-IIB	95.00	2	7.071	90	100	95.00
CARA-OTROS	100.00	1	.	100	100	100.00
Total	53.16	78	46.463	0	100	52.75

RESULTADOS

Cada extremidad, el tronco y la cara, se agruparon a su vez, según la ubicación del área cruenta, y la profundidad de la quemadura.

RESULTADOS

EXTREMIDAD SUPERIOR $n=26$

- Clasificación: Brazo ($n=9$), Antebrazo ($n=11$), Mano ($n=5$) y Axila ($n=1$).
- Promedio de epitelización: $65.38\pm 46.41\%$ ($n=26$), mediana de 100% con un tamaño promedio de 64.92 cm^2 rango: 4cm^2 - 324cm^2 Mediana: 35cm^2 .
- El **mayor porcentaje de epitelización** se encontró en las áreas cruentas ubicadas en **mano** con un promedio del 100% ($n=5$) y el menor en axila 0% ($n=1$).
- Profundidad de las áreas cruentas: IIA ($n=3$), IIB ($n=19$), III ($n=5$).

RESULTADOS

EXTREMIDAD SUPERIOR

Se encontró diferencia significativa en las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre el tamaño del área cruenta y su localización en la extremidad superior ($p=0.001$ KW), siendo del 100% en áreas entre $0-9.75\text{cm}^2$ independiente de su ubicación en la extremidad, y menor: 0% en las áreas cruentas ubicadas en Axila y antebrazo con un tamaño entre 9.76 y 41cm^2

Medidas descriptivas del porcentaje de epitelización por la interacción entre el tamaño área cruenta y su localización en el Miembro Superior

AREA CM2 - E. SUPERIOR	PROMEDIO	N	DESVIACION St.	MINIMO	MAXIMO	MEDIANA
.00	47.05	52	45.709	0	100	35.15
0-9.75 BRAZO	100.00	1	.	100	100	100.00
0-9.75 ANTEBRAZO	100.00	2	.000	100	100	100.00
0-9.75 MANO	100.00	3	.000	100	100	100.00
9.76-41 BRAZO	75.00	4	50.000	0	100	100.00
9.76-41 ANTEBRAZO	.00	2	.000	0	0	.00
9.76-41 MANO	100.00	1	.	100	100	100.00
9.76-41 AXILA	.00	1	.	0	0	.00
41.1-108.75 BRAZO	37.50	4	47.871	0	100	25.00
41.1-108.75 ANTEBRAZO	50.00	2	70.711	0	100	50.00
41.1-108.75 MANO	100.00	1	.	100	100	100.00
108.76-836 ANTEBRAZO	70.00	5	44.721	0	100	100.00
Total	53.16	78	46.463	0	100	52.75

RESULTADOS

EXTREMIDAD SUPERIOR

Se encontró diferencia significativa en las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre la ubicación del área cruenta en el miembro superior y la profundidad de la quemadura ($p=0.002$, KW) siendo menor para las quemaduras IIB localizadas en el antebrazo (Promedio= 43.75% y mediana= 100%) con relación a los demás grupos

Medidas descriptivas del porcentaje de epitelización por la interacción de la ubicación en miembro superior y la profundidad de la quemadura

UBICACION - QUEMADURA	PROMEDIO	N	DESVIACION St.	MINIMO	MAXIMO	MEDIANA
.00	47.05	52	45.709	0	100	35.15
BRAZO-IIB	56.25	8	49.552	0	100	75.00
BRAZO-III	100.00	1	.	100	100	100.00
ANTEBRAZO-IIA	100.00	3	.000	100	100	100.00
ANTEBRAZO-IIB	43.75	8	49.552	0	100	25.00
MANO-IIB	100.00	2	.000	100	100	100.00
MANO-III	100.00	3	.000	100	100	100.00
AXILA-IIB	.00	1	.	0	0	.00
Total	53.16	78	46.463	0	100	52.75

RESULTADOS

EXTREMIDAD INFERIOR n=34

- Clasificación: muslo (n=13), pierna (n=15), rodilla (n=1) y pie (n=5)
- Promedio de epitelización: **37.54%±42.36%** con una mediana de 20.23%. El tamaño de las áreas fue de 148.35cm² en promedio, rango: 2cm²-835cm² con una mediana de 54.00.
- EL mayor porcentaje de epitelización fue para las quemaduras IIA (100%) y el menor para las grado III localizadas en el muslo (2.92% n=7).
- Profundidad de las áreas cruentas: IIA (n=2), IIB (n=11), III (n=17) y Otras (n=14).

RESULTADOS

EXTREMIDAD INFERIOR n=34

Se encontraron diferencias significativas en las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre la localización del área cruenta en el Miembro Inferior y la profundidad de la quemadura ($p=0.008$ KW) siendo mayor para las quemaduras IIB localizadas en pie: 100% y menor para las grado III localizadas en muslo: 2.92% mediana: 0.00 si se tiene en cuenta grupos con $n>1$

RESULTADOS

EXTREMIDAD INFERIOR n=34

Medidas descriptivas del Porcentaje de epitelización por la Interacción de la ubicación en el miembro inferior y la profundidad de la quemadura

UBICACION QUEMADURA	PROMEDIO	N	DESVIACION St.	MINIMO	MAXIMO	MEDIANA
.00	65.23	44	46.330	0	100	100.00
MUSLO-IIA	100.00	1	.	100	100	100.00
MUSLO-IIB	52.25	4	55.259	0	100	54.50
MUSLO-III	2.92	7	7.729	0	20	.00
MUSLO-OTRAS	100.00	1	.	100	100	100.00
PIERNA-IIB	53.99	5	26.960	33	100	41.17
PIERNA-III	8.57	7	12.150	0	30	.00
PIERNA-OTRAS	12.33	3	21.362	0	37	.00
PIE-IIA	100.00	1	.	100	100	100.00
PIE-IIB	100.00	2	.000	100	100	100.00
PIE-III	90.00	2	14.142	80	100	90.00
RODILLA-III	.00	1	.	0	0	.00
Total	53.16	78	46.463	0	100	52.75

RESULTADOS

EXTREMIDAD INFERIOR n=34

No se encontró diferencia significativa entre las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre el tamaño por cuartiles del área cruenta y su ubicación en la extremidad Inferior ($p=0.141$ KW).

RESULTADOS

TRONCO n=15

- Clasificación: Tórax (n=8), abdomen (n=4) y espalda (n=3)
- Promedio de epitelización: 58.67%±49.83% con una mediana del 100%, el tamaño de las áreas fue de 129.55cm² en promedio rango 3cm²-729cm² mediana: 42.00 cm²
- El mayor porcentaje de epitelización fue para las quemaduras IIA siendo del 100% y el menor para las grado III: 0% independientemente de su localización en el tronco
- Profundidad de las áreas cruentas: IIA (n=3), IIB (n=7), III (n=3) y Otras (n=2).

RESULTADOS

TRONCO $n=15$

Se encontraron diferencias significativas en las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre la profundidad del área cruenta y su ubicación en el Tronco ($p=0.025$, KW), siendo mayor para las IIA: 100% y menor para las IIB localizadas en Tórax: 66.67% mediana 100%, para grupos con $n>1$

RESULTADOS

TRONCO n=15

Medidas descriptivas del porcentaje de epitelización por la Interacción entre la ubicación en el tronco y la profundidad del área cruenta

UBICACION PROFUNDIDAD	PROMEDIO	N	DESVIACION ST.	MINIMO	MAXIMO	MEDIANA
.00	51.85	63	45.948	0	100	50.00
TORAX-IIA	100.00	2	.000	100	100	100.00
TORAX-IIB	66.67	3	57.735	0	100	100.00
TORAX-III	.00	1	.	0	0	.00
TORAX-OTRAS	.00	2	.000	0	0	.00
ABDOMEN-IIA	100.00	1	.	100	100	100.00
ABDOMEN-IIB	90.00	2	14.142	80	100	90.00
ABDOMEN-III	.00	1	.	0	0	.00
ESPALDA-IIB	100.00	2	.000	100	100	100.00
ESPALDA-III	.00	1	.	0	0	.00
Total	53.16	78	46.463	0	100	52.75

RESULTADOS

TRONCO $n=15$

No se encontraron diferencias significativas en las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre el tamaño del área cruenta y su ubicación en el Tronco ($p=0.083$ KW).

RESULTADOS

CARA n= 3

- Etiología: 2=Quemadura IIB y 1= Resección quirúrgica; con un promedio de epitelización de $96.67\% \pm 5.77\%$. (n=3) mediana. 100%
- El tamaño de las áreas fue entre 20-15cm² con una mediana de 9cm²
- No se encontró diferencia significativa entre las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre el tamaño del área cruenta y su localización en la cara ($p=1.00$, KW) ni la profundidad del área cruenta y su localización en la cara ($p=1.00$, KW).

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DEL PROCESO DE ELABORACION Y COLOCACION DE LOS INJERTOS

- **El tiempo promedio entre la lesión y la toma de la biopsia fue de 28.34 días mediana de 26.5 días y un rango 1-132 días**
- El tiempo promedio entre la toma de la biopsia y la aplicación del injerto de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo fue de **7.55 días**, mediana de 6 días y rango: 4-20 días
- Se realizo estratificación en 3 grupos:
 1. 4-8 días
 2. 9-13 días
 3. 14-20 días

RESULTADOS

El mayor porcentaje de epitelización se encontró en el grupo entre 4-7 días

Medidas descriptivas del porcentaje de epitelización según tiempo transcurrido entre la toma de la Biopsia y la aplicación del injerto

GRUPO	QUEMADURA	MEDIANA TAMAÑO	N	EPITELIZACION	DESV St.	MEDIANA EPITELIZACION
4-8 DIAS	IIA	19.00	8	100	.000	100.00
	IIB	42.00	23	75.22	39.643	100.00
	III	18.00	15	40.67	47.879	10.00
	OTROS	10.15	4	9.25	18.500	.00
	Total		50	63.54	45.424	
9-13 DIAS	IIB	37.00	16	44.94	44.764	37.24
	III	140.00	4	.000	.000	.00
	OTROS	835.00	1	.000	.000	.00
	Total		21	34.24	43.445	
14-20 Días	III	405.00	5	10.09	14.223	.00
	OTROS	14.00	2	100.00	.000	100.00
	Total		7	35.78	45.383	

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DEL PROCESO DE ELABORACION Y COLOCACION DE LOS INJERTOS

Se encontró diferencia significativa en las medianas del porcentaje de epitelización de la interacción entre los días transcurridos entre la toma de la biopsia y la aplicación del injerto con la profundidad del área cruenta ($p < 0.001$ KW) siendo mayor para las IIB injertadas entre 4-8 Días (Promedio: 75.22% mediana 100% n=23) que para las IIB injertadas entre 9-13 Días (Promedio: 44.94% mediana 37.24% n = 16)

RESULTADOS

Medidas descriptivas del porcentaje de epitelización por la Interacción entre los días transcurridos entre la toma de la biopsia y la Cirugía, con la profundidad área cruenta

DIAS - PROFUNDIDAD	PROME DIO	N	DESVIACION St	MEDIANA	MINIMO	MAXIMO
4-8DIAS IIA	100.00	8	.000	100.00	100	100
4-8DIAS IIB	75.22	23	39.643	100.00	0	100
4-8DIAS III	40.67	15	47.879	10.00	0	100
4-8DIAS OTRAS	9.25	4	18.500	.00	0	37
9-13 DIAS IIB	44.94	16	44.764	37.24	0	100
9-13 DIAS III	.00	4	.000	.00	0	0
9-13 DIAS OTROS	.00	1	.	.00	0	0
14-20 DIAS III	10.09	5	14.223	.00	0	30
14-20 DIAS OTRAS	100.00	2	.000	100.00	100	100
Total	53.16	78	46.463	52.75	0	100

RESULTADOS

CARACTERISTICAS DEL PROCESO DE ELABORACION Y COLOCACION DE LOS INJERTOS

Se encontró diferencia significativa entre las medianas del porcentaje de epitelización entre los días transcurridos entre la toma de la biopsia-aplicación del injerto, y el tamaño del área cruenta según la distribución en cuartiles ($p=0.026$ KW). Siendo mayor el porcentaje de epitelización en áreas cruentas del 1-3 y 4 cuartil injertadas entre 4-8 días con relación a los otros grupos, y en el 2 cuartil las injertadas entre 9-13 días con relación al grupo injertado entre 4-8 días.

RESULTADOS

Medidas descriptivas del porcentaje de epitelización por la Interacción de los días transcurridos entre la toma de la biopsia y la cirugía, con el tamaño del área cruenta

DIAS TAMAÑO	PROMEDIO	N	DESVIACION SL	MEDIANA	MINIMO	MAXIMO
4-8DIAS 0-9.75	71.43	14	46.881	100.00	0	100
4-8DIAS 9.76-41	58.36	14	46.650	85.00	0	100
4-8DIAS 41.1-108.75	72.50	12	42.453	100.00	0	100
4-8DIAS 108.76-836	49.00	10	47.246	45.00	0	100
9-13DIAS 0-9.75	95.00	4	10.000	100.00	80	100
9-13DIAS 9.76-41	31.10	5	45.399	.00	0	100
9-13DIAS 41.1-108.75	20.33	7	37.187	.00	0	100
9-13 DIAS 108.76-836	8.23	5	18.412	.00	0	41
14-20DIAS 9.76-41	100.00	1	.	100.00	100	100
14-20DIAS 9.76-41	100.00	1	.	100.00	100	100
14-20 DIAS 41.1-108.75	.00	1	.	.00	0	0
14-20 DIAS 108.76-836	12.61	4	15.076	10.23	0	30
Total	53.16	78	46.463	52.75	0	100

RESULTADOS

COMPLICACIONES

- Hallazgo más frecuente al examen físico: secreción escasa : drenaje en los controles al día 5 y 7 (hallazgo en 16 de los 44 pacientes) ; no se presentaron signos adicionales de infección local como edema, eritema, fiebre o calor.
- Hipertrofia en 3 pacientes de los 44 tratados. Corresponden a 3 áreas de las 78 injertadas. Llama la atención que estas 3 áreas eran quemaduras Grado III.
- Prurito: Referido por 13 de los 44 pacientes, principalmente en los días previos al desprendimiento de la lámina.

DISCUSIÓN

Existen diversos reportes de cultivos de queratinocitos en la construcción de parches regenerativos de piel y la mayoría son con células tomadas de **donantes o de cadáveres** cultivados en **suero fetal bovino**, lo que implica realizar múltiples estudios tanto al donante como al receptor, lo cuál hace que el producto sea muy costoso e inviable en países en vía de desarrollo; la utilización de injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo suprime los inconvenientes de **incompatibilidad**, disminuye los costos del apósito y lo hace mas asequible. A lo largo del estudio no se reporto ningún caso de rechazo del apósito ni reacciones alérgicas de otro tipo

Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* 1975; 6(3): 331-343

Mcheik J.N, Barrault C., Bernard F.X, Levard G. Quantitative and qualitative study in keratinocytes from foreskin in children: perspective application in paediatric burns. *Burns In Press*

DISCUSIÓN

Se encuentran en la literatura mundial, reportes de pacientes manejados con cultivos de queratinocitos autólogos cultivados sobre fibroblastos heterólogos, algunas veces irradiados o sobre pegantes de fibrina

Scuderi N, Onesti M, Bistoni G, Ceccarelli S, Rotolo S, Angeloni A, Marchese C. The clinical application of autologous bioengineered skin based on a hyaluronic acid scaffold. *Biomaterials*. 29 (2008) 1620 – 1629

Bishara S, Costagliola M. Cultures epithelial autograft (CEA) in burn treatment: Three decades later. *Burns* 33 (2007) 405 – 413

Bannasch H, Horch R.E., Stark G. Transplantation of cultured autologous keratinocytes in fibrin sealant biomatrix to resurface chronic wounds. *Transplantation Proceedings* 33, (2001) 642 -644

DISCUSIÓN

Otras publicaciones muestran cultivos de queratinocitos autólogos sembrados sobre colágeno humano o animal, proteoglicanos derivados de tiburón, ácido hialurónico, dermis porcina acelular, polímeros sintéticos e incluso, se han aplicado directamente en suspensión sobre las áreas cruentas, sin embargo, los efectos secundarios de estas matrices no han sido bien estudiados y los casos reportados son escasos y con resultados variables

Bishara S, Costagliola M. Cultures epithelialautograft (CEA) in burn treatment: Threedecadeslater. Burns 33 (2007) 405 – 413

Bannasch H, Horch R.E, Stark G. Transplantation of cultured autologous keratinocytes in fibrinsealantbiomatrixtoresurfacechronwounds. TransplantationProceedings 33, (2001) 642 -644

AtiyehBishara S, Gunn William S, HayekShady N. New technologiesforburnwoundclosure and healing—review of the literature. Burns 2005;31:944–56.

Chester DL, Balderson DS, Papini RPG. A review of keratinocytedeliverytothewoundbed. J BurnCareRehab 2004;25:266–75

DISCUSIÓN

Los cultivos autólogos se pueden demorar en su fabricación de **15 días a 4 semanas**, reportando como desventajas la demora en su fabricación, la fragilidad del parche (requiriendo completa inmovilización del paciente), la vulnerabilidad hacia las infecciones e inconsistencias en su integración

Mcheik J.N, Barrault C., Bernard F.X, Levard G. Quantitative and qualitative study in keratinocytes from foreskin in children: perspective application in paediatric burns. Burns In Press

Scuderi N, Onesti M, Bistoni G, Ceccarelli S, Rotolo S, Angeloni A, Marchese C. The clinical application of autologous bioengineered skin based on a hyaluronic acid scaffold. Biomaterials. 29 (2008) 1620 – 1629

Bishara S, Costagliola M. Cultures epithelial autograft (CEA) in burn treatment: Three decades later. Burns 33 (2007) 405 – 413

DISCUSIÓN

El estándar de oro para el manejo de áreas cruentas extensas es el injerto de piel parcial autólogo el cual tiene un porcentaje de integración entre el 80-100% (34- 37), y continua siendo la terapia mas eficaz; sin embargo la utilización de injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo constituye un método eficiente para la cobertura de áreas cruentas de características específicas; con un porcentaje de epitelización general de $53.16\% \pm 46.46\%$ según las observaciones de este trabajo

DISCUSIÓN

Se encontró que el área cruenta tratada con los queratinocitos autólogos presentaba una **cicatriz de mejor calidad**, sin induración y sin retracciones en comparación con los resultados obtenidos en áreas que cicatrizan por segunda intención o por curaciones; hallazgo compatible con lo reportado en la literatura

DISCUSIÓN

Limitaciones del estudio

- Manejo inadecuado del apósito por falta de conocimiento.
- La falta de disponibilidad de salas de cirugía aumento el tiempo de aplicación del apósito a más de 8 días, lo cual pudo influir en el porcentaje de epitelización del área cruenta.
- Selección de paciente, dado que es claro para los cirujanos Plásticos que la efectividad de los injertos de piel parcial es mayor que la de los injerto de queratinocitos autologos.

DISCUSIÓN

Limitaciones del estudio

- Falta de tamaño de muestra por áreas corporales
- Dentro de los objetivos planteados al inicio del estudio, se pretendía determinar el tiempo de epitelización del área cruenta según profundidad, pero cuando se realizó el análisis estadístico se observó que las fechas exactas no fueron documentadas en el proceso de recolección y el día de desprendimiento de la lamina se registró por la fecha correspondiente al control y no al día real; generando un sesgo de información importante, por lo cual no fue posible determinar el tiempo estimado de epitelización.

DISCUSIÓN - CONCLUSIONES

- La efectividad de los injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo, para la cobertura de áreas cruentas con indicaciones de injertos de piel parcial es de $53.16\% \pm 46.46\%$ siendo inferior a los resultados obtenidos con la utilización de injertos autólogos (80-100%), según los reportes de la literatura.
- El porcentaje de epitelización en las áreas cruentas cubiertas con injertos de queratinocitos cultivados en suero autólogo es mayor para las quemaduras IIA (100%) y IIB (62.79%), que para las III (27.57%) y las de etiología diferente (33.86%).

DISCUSIÓN - CONCLUSIONES

- El uso de injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo, son un método de cobertura eficaz para áreas cruentas producidas por quemaduras IIA y IIB independientemente del tamaño o la localización; y para áreas cruentas pequeñas ($<9\text{cm}^2$) de etiología diferente o GIII de profundidad.
- Según el área corporal las IIA epitelizaron el 100% en todas las áreas, las IIB mostraron mayor epitelización en cara y menor en miembros inferiores, las III mayor en miembros superiores y menor en tronco y las de diferente etiología mayor en avulsión en cara y menor en extremidad inferior.

DISCUSIÓN - CONCLUSIONES

- No se encontró relación en el porcentaje de epitelización del área cruenta cubierta con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo según edad, género o presencia de comorbilidades. **Se encontró relación entre la interacción de las medianas del porcentaje de epitelización entre área corporal y grado de quemadura** ($p < 0.001$ KW) siendo mayor para la quemaduras **IIA** en todas las áreas, **IIB** en cara, **III** en tronco y **otras** en cara; y el menor porcentaje de epitelización en las quemaduras grado III y áreas cruentas de otras etiologías ubicadas tronco.

DISCUSIÓN - CONCLUSIONES

- El porcentaje de epitelización es mayor para las áreas cruentas injertadas entre 4-8 días desde la toma de la biopsia que para intervalos de tiempo mayor; independientemente de la profundidad, el tamaño o la localización del área cruenta.
- La complicación mas frecuente secundaria a la aplicación de apósitos de queratinocitos autólogos en suero autólogo fue la presencia de seromas que requirieron drenaje en los controles postoperatorios; y el prurito leve fácilmente tolerable por le paciente, previo al desprendimiento del apósito

DISCUSIÓN - RECOMENDACIONES

- Con el fin de tener un mejor control de sesgos y tener grupos más homogéneos y comparables, se recomienda la realización de un **ensayo clínico controlado aleatorizado** para comparar por tamaño, localización y profundidad; se sugiere realizar aleatorización de los pacientes con áreas cruentas con indicación de cobertura con injertos de piel parcial en 2 grupos de tratamiento: injertos de piel parcial y injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo y de esta forma tener un grupo control.

DISCUSIÓN - RECOMENDACIONES

- Dar indicaciones precisas a cada paciente para que se comuniquen con un integrante del equipo de investigación en el momento exacto de desprendimiento del apósito.
- El seguimiento de los pacientes con áreas cruentas cubiertas con injertos de queratinocitos autólogos cultivados en suero autólogo debe ser realizado exclusivamente por el médico tratante o por personal entrenado en el manejo de este tipo de apósitos.

BIBLIOGRAFIA

- Zambrano JC, Nieto LE, Gaona J. Revista Colombiana de Cirugía Plástica y Reconstructiva. 2009; 15 No 2: 43 – 47.
- Eichenfield LF, Frieden IJ, Esterly NB. Neonatal Dermatology. Second Edition. Saunders Elseiver, 2008:1-3.
- Canby Craig A. Anatomía basada en la resolución de problemas. Elsevier España, 2007: 239-240.
- Lorenzo Tapia, Francisco. TCAE en la unidad de quemados. Publicaciones Vértice. Pág 33-34.
- Knight S, Biswas S. Lo esencial en sistema musculoesquelético y piel. Segunda edición. Elsevier España, 2004:135-136
- James E, Booth S, Dheansa B, Mann D, Reid M, Shevchenko R, Gilbert P. Sprayed cultured autologous keratinocytes used alone or in combination with Meshed autograftsto accelerate wound closure in difficult-to-heal burn patients. Burns 2010; 36 e10-e20
- O'Connor NE, Mulliken JB, Banks-Schlegel S, Kehinde O, Green H. Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. Lancet 1981; 1(8211):75–8.
- Dascome W, Britt LD, Jones GT, Futrell JW, Lind J. Cultured keratinocyte grafts: a review and clinical update. Curr Surg 1993;50:428–38.
- Chester DL, Balderson DS, Papini RP. A review of keratinocyte delivery to the wound bed. J Burn Care Rehabil 2004;25(3):266–75.
- Cuono C, Langdon R, McGuire J. Use of cultured epidermal autografts and dermal allografts as skin replacement after burn injury. Lancet 1986; 1(8490):1123–4.

BIBLIOGRAFIA

- Cuono CB, Langdon R, Birchall N, Barttelbort S, McGuire J Composite autologous-allogeneic skin replacement: development and clinical application. *Plast Reconstr Surg* 1987;80(4):626–37.
- Braye F, Oddou L, Bertin-Maghit M, Belgacem S, Damour O Spitalier P, et al. Widely meshed autograft associated with cultured autologous epithelium for the treatment of major burns in children: report of 12 cases. *Eur J Pediatr Surg* 2000;10(1):35–40.
- Leigh IM, Navsaria H, Purkis PE, McKay I. Clinical practice and biological effects of keratinocyte grafting. *Ann Acad Med Singapore* 1991;20(4):549–55.
- Hendon DN, Barrow RE, Rutan RL, Rutan TC, Desai MH, Abston S. A comparison of conservative versus early excision: Therapies in severely burned patients. *Ann Surg* 1989;209:547-53
- Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* 1975; 6(3): 331-343
- Haslik W, Ka, oloz L, Lumenta D.B, Hladik M, Beck H, Frey M. The treatment of deep dermal hand burns: How do we achieve better results? Should we use allogenic keratinocytes or skin grafts? *Burns* 2010; 36 329-34
- Kangesu T, Navsaria HA, Manek S, Fryer PR, Leigh IM, Green CJ. Kerato-dermal grafts: the importance of dermis for the in vivo growth of cultured keratinocytes. *Br J Plast Surg* 1990;23 (2.1):189-98.
- Vincent C, Martijin B.A, Biological Background of dermal Substitutes. *Burns* 2010; 36 305-21.
- Mcheik J.N, Barrault C.,, Bernard F.X, Levard G. Quantitative and qualitative study in keratinocytes from foreskin in children: perspective application in paediatric burns. *Burns* In Press
- Scuderi N, Onesti M, Bistoni G, Ceccarelli S, Rotolo S, Angeloni A, Marchese C. The clinical application of autologous bioengineered skin based on a hyaluronic acid scaffold. *Biomaterials*. 29 (2008) 1620 – 1629

BIBLIOGRAFIA

- Bishara S, Costagliola M. Cultures epithelial autograft (CEA) in burn treatment: Three decades later. *Burns* 33 (2007) 405 – 413
- Bannasch H, Horch R.E, Stark G. Transplantation of cultured autologous keratinocytes in fibrin sealant biomatrix to resurface chronic wounds. *Transplantation Proceedings* 33, (2001) 642 -644
- Atiyeh Bishara S, Gunn William S, Hayek Shady N. New technologies for burn wound closure and healing—review of the literature. *Burns* 2005;31:944–56.
- Chester DL, Balderson DS, Papini RPG. A review of keratinocyte delivery to the wound bed. *J Burn Care Rehab* 2004;25:266–75
- Holmes IV JH, Honari S, Gibran NS. Excision and grafting of the large burn wound. *Prob Gen Surg* 2003;20:47–54.
- Ronfard V, Rives JM, Neveux Y, Carsin H, Barrandon Y Long-term regeneration of human epidermis on third degree burn transplanted with autologous cultured epithelium grown on a fibrin matrix. *Transplantation* 2000;70:1588–98.
- Meana A, Iglesias J, Del Rio M, Larcher F, Madrigal B, Fresno MF, et al. Large surface of cultured human epithelium obtained on a dermal matrix based on live fibroblast containing fibrin gels. *Burns* 1998;24:621–30
- Wright KA, Nadire KB, Busto P, Tublo R, McPherson JM, Wentworth BM. Alternative delivery of keratinocytes using a polyurethane membrane and the implications for its use in the treatment of full thickness burn injury. *Burns* 1998;24:7–17.
- Kamolz LP, Luegmair M, Wickb N, Eisenbocka B, Burjaka S, Koller R, et al. The Viennese culture method: cultured

BIBLIOGRAFIA

- Compton CC, Gill JM, Bradford DA, Regauer S, Gallico GG, O'Connor NE. Skin regenerated from cultured epithelial autografts on full thickness burn wounds from 6 days to 5 years after grafting. A light, electron microscopic and immunohistochemical study. *Lab Invest J Tech Methods Pathol* 1989;60(5):600-12
- Bannasch H, Horch R.E., Stark G, Unterberg T, Fohn M. Cultured keratinocytes in fibrin with decellularized dermis close porcine full – thickness wounds in a single step. *Burns* 34 (2008) 1015-1021
- Fraulin FO, Bahoric A, Harrop AR, Hirruki T, Clarke HM. Autotransplantation of epithelial cells in the pig via an aerosol vehicle. *J Burn Care Rehabil* 1998; 19:337-45
- Experience with elastic rubber bands for the tie-over dressing in skin graft, *Burns* 32 (2006) 212–215
- Should dermal scald burns in children be covered with autologous skin grafts or with allogeneic cultivated keratinocytes?—“The Viennese concept”, *Burns* 31 (2005) 578–586.
- A randomised controlled trial of a double layer of Allevynä compared to Jellonet and proflavin as a tie-over dressing for small skin grafts, *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* (2008) 61, 535e539
- Full thickness skin graft cover for lower limb defects following excision of cutaneous lesions, *Dermatology on Line Journal*

CIRUGIA

DIA 5

DIA 15

DIA 30

DIA 5

DIA 7

DIA 15

DIA 30

Pac
d
q

CIRUGIA

DIA 5

DIA 7

DIA 15

DIA 30

Pa
ca
te

Pa
ca
te

CIRUGIA

CIRUGIA

DIA 5

DIA 5

DIA 7

DIA 7

DIA 15

DIA 15

DIA 30

DIA 30

GRACIAS