



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
Departamento de Cirugía

Utilidad de colocación de mallas  
intraperitoneales y supraaponeuróticas  
impregnadas con alginato cálcico y  
alginato cálcico con factores de  
crecimiento.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADO POR:

**CARLOS JORDÁN CHAVES**

BAJO LA DIRECCIÓN DE LOS DOCTORES:  
D. FERNANDO DE LA PORTILLA DE JUAN  
D. FRANCISCO JAVIER PADILLO RUIZ  
D. FERNANDO DOCOBO DURÁNTEZ

Sevilla, 2017

## TABLA DE CONTENIDOS

### 1. INTRODUCCIÓN

- 1.1. HERNIA. LOS MÉDICOS QUE LO DESCUBRIERON Y LA TRATARON
  - 1.1.1. Historia de la hernia
    - 1.1.1.1. Introducción
    - 1.1.1.2. Historia
  - 1.1.2. Historia de los biomateriales
  
- 1.2. PARED ABDOMINAL
  - 1.2.1. Embriología de la pared abdominal
  - 1.2.2. Anatomía de la pared abdominal
    - 1.2.2.1. Planos músculoaponeuróticos
    - 1.2.2.2. Vascularización de la pared abdominal anterior
    - 1.2.2.3. Inervación de la pared abdominal anterior
  - 1.2.3. Pared abdominal: fisiopatología y biomecánica
  - 1.2.4. Etiopatogenia de la hernia incisional (evisceración y eventración)
    - 1.2.4.1. Factores de riesgo implicados en la eventración
    - 1.2.4.2. Factores biológicos en la génesis de la eventración
  
- 1.3. HERNIA ABDOMINAL
  - 1.3.1. Clasificación general de las hernias
  - 1.3.2. Hernia inguinal / inguinoescrotal
    - 1.3.2.1. Clasificación de la hernia inguinal
  - 1.3.3. Hernia crural
    - 1.3.3.1. Clasificación de la hernia crural
  - 1.3.4. Hernia umbilical
  - 1.3.5. Hernia incisional / eventración
  - 1.3.6. Otros tipos de hernias

- 1.4 CICATRIZACIÓN. PROCESO DE REGENERACIÓN DE LOS TEJIDOS
  - 1.4.1 Fase de hemostasia e inflamación
  - 1.4.2 Fase proliferativa
  - 1.4.3 Fase de maduración o del remodelación
  
- 1.5 MATERIALES PROTÉSICOS UTILIZADOS EN LA REPARACIÓN DE LA HERNIA DE PARED ABDOMINAL
  - 1.5.1 Biomateriales. Respuesta tisular.
  - 1.5.2 Propiedades y cualidades necesarias para la utilización de un biomaterial
  - 1.5.3 Clasificación de las prótesis
  - 1.5.4 Complicaciones de los implantes
  
- 1.6 BIOMATERIALES
  - 1.6.1 Tipos de biomateriales
  
- 1.7 EL ALGINATO COMO BIOMATERIAL
  - 1.7.1 Estructura y propiedades del alginato
  - 1.7.2 Utilidades en el campo de la bioingeniería
  
- 1.8 FACTORES DE CRECIMIENTO
  - 1.8.1 Definición
  - 1.8.2 Obtención de factores de crecimiento
  - 1.8.3 Plasma rico en plaquetas VS plasma rico en factores
  - 1.8.4 Usos clínicos del plasma rico en factores de crecimiento
  
- 1.9 MODELOS DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL
  - 1.9.1 Modelos experimentales con malla de Poliglactina 910.
  - 1.9.2 Modelos experimentales con alginato cálcico.
  - 1.9.3 Modelos experimentales con factores de crecimiento.

## **2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO**

## **3. OBJETIVOS**

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

4.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

4.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

4.3 INSTALACIONES

4.4 MATERIAL QUIRÚRGICO

4.5 ALGINATO. ELABORACIÓN DEL GEL. PREPARACIÓN DE MALLAS DE POLIGLACTINA 910

4.6 OBTENCIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTO

4.7 CONSIDERACIONES LEGALES Y ÉTICAS

4.8 INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA. PROCEDIMIENTOS

4.8.1 Período preoperatorio

4.8.2 Período operatorio

4.8.3 Período postoperatorio

4.8.4 Procesamiento de las muestras obtenidas

4.9 VARIABLES A ESTUDIO

4.9.1 Variables: Definición

4.10 MODELO ESTADÍSTICO

## **5. RESULTADOS**

5.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD Y MORBILIDAD: ABSCESOS Y FÍSTULAS

5.1.1 Mortalidad



5.1.2 Morbilidad

5.2 EVALUACIÓN DE LA REPARACIÓN DE LA PARED ABDOMINAL

5.3 ESTUDIO DESCRIPTIVO VARIABLES NO AGRUPADAS

5.3.1 Inflamación

5.3.2 Vascularización

5.3.3 Fibrosis

5.3.4 Hidrólisis

5.4 ESTUDIO INFERENCIAL VARIABLES NO AGRUPADAS

5.4.1 Estudio inferencial/Sacrificio a los 14 días

5.4.2 Estudio inferencial/Sacrificio a los 28 días

5.4.3 Estudio inferencial atendiendo grado de severidad

5.5 ESTUDIO DESCRIPTIVO E INFERENCIAL, TEST DE FISHER (A) Y TEST COMPARACION PROPORCIONES (B), POR GRUPOS DE INTERVENCIÓN DE FORMA INDEPENDIENTE DE LAS VARIABLES HISTOLÓGICAS CON SUS GRADOS DE SEVERIDAD AGRUPADOS (LEVE VS MODERADO-SEVERO)

5.5.1 Inflamación malla intraperitoneal

5.5.2 Inflamación malla supraaponeurótica

5.5.3 Vascularización malla intraperitoneal

5.5.4 Vascularización malla supraaponeurótica

5.5.5 Fibrosis malla intraperitoneal

5.5.6 Fibrosis malla supraaponeurótica

5.5.7 Hidrólisis malla intraperitoneal

5.5.8 Hidrólisis malla supraaponeurótica

## **6. DISCUSIÓN**

## **7. CONCLUSIONES**

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

## 1.INTRODUCCIÓN

### 1.1 HERNIA. LOS MÉDICOS QUE LA DESCUBRIERON Y TRATARON.

#### 1.1.1 HISTORIA DE LA HERNIA.

##### 1.1.1.1 Introducción

Haremos un breve repaso sobre esta patología a lo largo de la historia de la humanidad. Nos centraremos, principalmente, en la región inguinal por ser sobre la que mayor información obtenemos desde tiempos ancestrales.

En medicina bien es sabido que establecer períodos históricos es una tarea compleja. Para lograr establecer dos períodos históricos, nos decidimos por dividir en dos de desigual duración: el pretécnico y el técnico.

El período pretécnico se va a caracterizar por una mezcla de empirismo y magia, extendiéndose desde los orígenes de la humanidad hasta la Grecia de los siglos VI y V a. C.

El período técnico tiene su origen hace 2,500 años y en él, el médico intenta curar al enfermo preguntándose lo que en sí mismo son el remedio, la enfermedad y el hombre, sabiendo, pues, lo que hace y no hace para superar la patología a la que se enfrenta. Durante este periodo se va a tratar de responder a estas preguntas a través de la fisiología (ciencia de la naturaleza).

La primera etapa de la era técnica va a transcurrir desde Alcmeón de Crotona a Hipócrates hasta los médicos helenísticos y postgalénicos.

La segunda etapa se constituye por la incorporación del helenismo a las grandes culturas de la Edad Media: Bizancio, el Islam y el Cristianismo de occidente; distintas entre sí todas ellas, pero semejantes a su vez porque en ellas perdura el fundamento de la ciencia natural antigua.

La tercera etapa se inicia en el siglo XIV y viene con la aparición de la ciencia y la técnica moderna. Se caracteriza por la idea de un mayor progreso: “lo que hoy es imposible será posible mañana”. Este periodo discurre desde la Edad Media hasta la Primera Guerra Mundial, dividiéndose en Renacimiento, Barroco, Ilustración, Romanticismo y Positivismo; naciendo así la anestesia, la antisepsia, la asepsia y la mejor comprensión anatómica del cuerpo humano. Con estas herramientas ya disponibles, se posibilita el planteamiento del tratamiento correcto de la hernia inguinal a finales del siglo XIX.

La historia de la cirugía de la hernia inguinal, por tanto, comienza a finales del siglo XIX con Bassini, Halsted, Mcvay y Shouldice; continuando hasta nuestros días.

#### 1.1.1.2 Historia

Las primeras reseñas históricas de esta patología las encontramos en el Papiro de Ebers, Egipto, descubierto en el año 1873. En dicho manuscrito se describe su tratamiento mediante el vendaje. En la momia del faraón Menepath (1215 a.C.) se observó una cicatriz transversal en el periné y castración bilateral, lo cual representa el primer ejemplo de tratamiento quirúrgico de esta patología.

Posterior a esto, no se encuentra ningún avance significativo en el tratamiento de la hernia hasta el inicio de los siglos VI y III antes de Cristo, con la intervención del pueblo Griego que crea un lenguaje en el que aparecieron los signos y a través de ello el lenguaje racional<sup>1</sup>.

Es en este periodo que aparece la medicina Hipocrática, en uno de cuyos libros llamado *Corpus Hipocraticum* hay escasas referencias en cuanto a la hernia y ninguna sobre su tratamiento. Sí es referido que las hernias de la región inguinal son más frecuentes que las de la región umbilical y que éstas pueden provocar dolor, náuseas y vómitos.

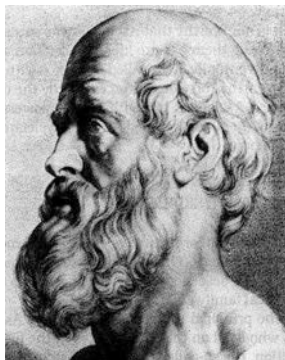


Ilustración 1. Hipócrates de Cos (470-370 a.C.)

Tomado de: <http://www.biografiasyvidas.com/biografia/h/hipocrates.htm>

Posteriormente, en Alejandría (Egipto) se va a desarrollar la dinastía Ptolomea (300-100 a.C.), la cual supone un avance respecto al conocimiento anatómico en cadáveres. Es en este período donde la técnica quirúrgica tiene su mayor auge. Cabe destacar la obra de Celso *De Medicinae* y concretamente en ella, Celso describe en el tomo VII dedicado a la cirugía, una operación en la que tras incidir el escroto por debajo del pubis, se practicaba *la quelotomía* o extirpación del saco<sup>2,3</sup>.

En el año 130 d.C. nace Galeno (Pérgamo). Su obra enciclopédica ha tenido gran impacto en la Medicina; él quien introdujo el concepto de ruptura del peritoneo para explicar su etiopatogenia.



Ilustración 2. Galeno de Pérgamo (130-200 d.C.)

Tomado de: <http://extrascholam.blogspot.com.es/2012/04/la-medicina-en-roma.html>

De forma paralela a esta época emerge la medicina islámica, en la cual se pueden distinguir dos grandes ramas: el Islam Oriental, con Avicena como figura más representativa, y el Occidental que desarrolla más la cirugía en la cual la máxima referencia es Albucasis.

En el *Canon* de Avicena no aporta gran información sobre el tratado de las hernias, sin embargo en él se menciona un gran número de instrumentos quirúrgicos<sup>3,4</sup>.

Por el contrario, la *Obra quirúrgica* de Albucasis (Abu 'l-Qasim Khalaf Ibn' Abbas al-Zahrawi), dedicando el trigésimo tomo de su obra (la cual consta de 30) a la cirugía, teniendo un gran impacto.



Ilustración 3. Abulcasis (936-1013d.C.)

Tomado de: <http://www.organizacionislam.org.ar/ciencia/zahrawi.htm>

En esta obra Albucasis refiere: “... cuando una hernia ocurre en la ingle y parte del intestino y del omento se desliza en el escroto, su tratamiento comienza prohibiendo al enfermo la toma de alimentos durante el día y medio y prescribiendo laxantes para vaciarse el intestino. Una vez preparado se coloca de espaldas frente al médico y se le invita a que contenga el aliento y provoque la salida del intestino y del omento a través del orificio herniario; en este momento, el cirujano reintroduce el contenido con su dedo y marca por debajo de él, sobre el hueso púbico, una semiluna con sus cuernos hacia arriba. Calienta un cauterio y sienta a un ayudante sobre las piernas, otro sobre el pecho, sujetándole las manos y mientras un tercero evita la salida del intestino por el anillo externo con la mano, el cirujano aplica el cauterio sobre la marca previa hasta alcanzar el pubis; haciéndolo una segunda vez, si la primera no llega al hueso...”, finalizando sus intervenciones con un vendaje especial que dio lugar más adelante a lo que actualmente denominamos “braguero”<sup>3,4</sup>.

Tras la caída del imperio Romano en el año 467 d.C., los árabes ocuparon el Este, Oeste y sur del Mediterráneo; los hunos y los vikingos, cortaron las rutas comerciales

entre el Báltico y el Mar Negro dejando así una Europa con vías comerciales reducidas y ligadas únicamente a Italia, por lo que no el marco más propicio para el desarrollo de la ciencia, la cual se encontraba centrada en la iglesia y la corte para aquellas personas que supieran leer o escribir. La cirugía pues se encontraba en manos de cirujanos barberos.

Italia se convierte entonces, en el siglo XIII, en el centro cultural, surgiendo dos grandes escuelas quirúrgicas: la de Salerno, en el sur, en la cual se publica el primer manual de cirugía que se conoce con el nombre de *Manuscrito de Bambers*; y la de Bolonia, en el norte, en la cual se menciona que la anatomía y la cirugía han de formar parte del currículo del médico.

En el año 1252 nace una hermandad de cirujanos barberos que se unen para formar una escuela de cirujanos. A dicha escuela pertenece Guy de Chauliac, que escribe a sus 60 años su famosa obra, la cual pasó a ser una de las obras maestras en cirugía: *Inventorium sidecollectorium Artis Chirurgicalis Medicinæ* o *Chirurgia Magna*. En la misma se llegan a describir hasta seis cirugías en el tratamiento de la hernia, de las cuales cuatro incluyen la castración. En una de ellas, Chauliac utiliza la cauterización con arsénico, el llamado *cauterium poetenciale*; en otra de ellas utiliza una hebra de oro alrededor del cordón para impedir que descendan las vísceras, conservando la vascularización del testículo (técnica fue muy utilizada por Ambrosio Paré en 1412)<sup>3,4</sup>.



Ilustración 4. Guy de Chauliac (1300-1368 d.C.)

Tomado de: [https://en.wikipedia.org/wiki/Guy\\_de\\_Chauliac](https://en.wikipedia.org/wiki/Guy_de_Chauliac)

Seguimos avanzando y nos situamos ahora en el “Renacimiento”. La conquista por los turcos de Constantinopla, significó la llegada a la Europa Occidental de innumerables códices latinos y griegos, y con ellos, diferentes obras médicas.

Fueron aportaciones interesantes de este periodo inicial del renacimiento las de Gabriele Falopio, quien describió el conducto inguinal, y la de Fabrizio Abquapendente, profesor de cirugía de Padua que fundó un magnifico anfiteatro anatómico y quien en su obra desarrolla el tratamiento de las hernias basándose en lo ya expuesto hace años por Albucasis y Paulus de Aegina.

En la segunda mitad del siglo XV, la cirugía estaba copada por cirujanos barberos. En las facultades de cirugía, las clases eran impartidas en latín, lengua no manejada por los barberos, de manera que fueron quedando excluidos con el paso del tiempo. El desarrollo en el conocimiento de la anatomía, siendo Vesalio como máximo exponente con su obra *Humanis Corporis Fabrica*, y el desarrollo de la imprenta serán dos hechos que darán un gran impulso al conocimiento sobre cirugía en aquella época.

Entre los años 1600 y 1740 (Barroco) el mundo de las ciencias será enriquecido gracias al Método Experimental el cual fue utilizado en anatomía por Vesalio y en fisiología por Harvey. No obstante, la cirugía de la hernia era llevada a cabo fundamentalmente por cirujanos barberos, ya que los médicos de la facultad, entre los que se incluyen grandes anatomistas como Camper, preferían recomendar el uso de bragueros.



Ilustración 5. Andrés Vesalio (1514-1564 d.C.) Tomado de:  
<http://www.hablandodeciencia.com/articulos/2013/03/25/galeno-versus-vesalio/>



Percival Pott en 1756 describe la hernia congénita y su encarceración en su tratado sobre la anatomía del canal inguinal. El uso de los bragueros, a pesar de los avances realizados sobre la patología, perduró hasta el siglo XX, conservándose hasta nuestros días en los que prácticamente ya no se utilizan.

En el período de la Ilustración, entre 1740 y 1800, Gimbernat (quien era profesor de anatomía del Colegio de Cádiz y posteriormente del de Barcelona) plasma sus descubrimientos sobre las hernias en su obra *La Hernia Crural*. No debemos de olvidar citar a Richter y al italiano Scarpa, quienes exploraron de forma minuciosa la región inguinocrural<sup>3,4</sup>.



Ilustración, entre 1740 y 1800, profesor de anatomía del Colegio de Cádiz y posteriormente del de Barcelona) plasma sus descubrimientos sobre las hernias en su obra *La Hernia Crural*. No debemos de olvidar citar a Richter y al italiano Scarpa, quienes exploraron de forma minuciosa la región inguinocrural<sup>3,4</sup>.



Ilustración 6. Percivall Pott (1714-1788 d.C.)

Tomado de: <http://articulos.sld.cu/cimeq/?p=5370>

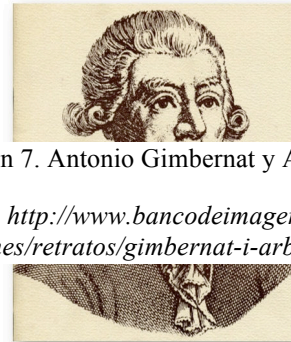


Ilustración 7. Antonio Gimbernat y Arbós (1734-1816 d.C.)

Tomado de: <http://www.bancodeimagenesmedicina.es/banco-de-imagenes/retratos/gimbernat-i-arboc-antoni-1783.html>

Durante el Romanticismo (1800-1848) encontraremos importantes aportaciones en el tratamiento de la hernia, destacando Dupuytren en Francia y de Scarpa en Italia. Fue éste último quien describió la hernia por deslizamiento en el año 1841. En este período Cooper, profesor de anatomía del Surgeon's Hall, describe la fascia transversalis y la señala como barrera principal para evitar la hernia indirecta. Describió, además el ligamento que lleva su nombre, y señaló que la hernia directa se producía a través del triángulo de Hasselbach, descrito en el año 1814. Destacan sus obras *The Anatomy and Surgical Treatment of Inguinal and Congenital Hernia (1804)* y *Anatomy and Surgical Treatment of Crural and Umbilical Hernia (1807)*. Pero a pesar de los avances anatómicos, la recidiva de la patología y la infección de la herida quirúrgica en el postoperatorio hace que muchos de los cirujanos opten por seguir recomendando el uso del braguero en la mayoría de los casos<sup>2-4</sup>.



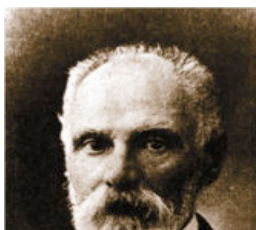


Ilustración 8. Sir Astley Paston Cooper (1768-1841 d.C.)

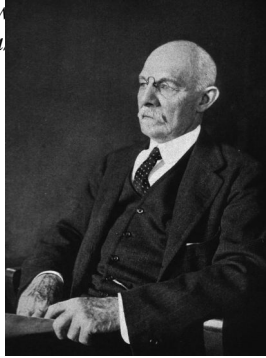
Tomado de: [https://en.wikipedia.org/wiki/Astley\\_Cooper](https://en.wikipedia.org/wiki/Astley_Cooper)

El Positivismo (1848 a 1914) es la era de Darwin, Madame Curie, Röntgen y Pasteur. En cirugía destacan Lister, Von Bergman y Morton, introductores de la antisepsia, asepsia y anestesia respectivamente. Es en esta época que aparece la figura en cirugía de Eduardo Bassini (1844-1924).

Bassini, nace en Pavía (1844, Italia). Su interés por los defectos de la pared abdominal son debidos a que padeció una fístula fecal a nivel de la región inguinal, debido a una herida de guerra. Nace en él, pues, la idea de fortalecer el plano posterior al canal inguinal como solución quirúrgica para resolución de dichos defectos. Su técnica fue utilizada por primera vez en el año 1884, siendo en 1887 presentada sus primeras experiencias en las asociaciones médicas tanto de Génova como de Pavía y al año siguiente en la Sociedad de Cirugía de Nápoles, publicando resultados de sólo 8 fallas en 206 pacientes tratados durante un periodo de tres años. En 1889 se edita su obra *Nuovo Metodo per la Cura Radicale dell'Ernia Inguinale*. Los resultados mostrados con el nuevo tratamiento de la hernia fueron un punto inflexión, ya que la falla del procedimiento previamente era entre un 30 y 40% al primer año elevándose al 100 % tras cuatro años. Además, gracias al incorporación de los nuevos conceptos de asepsia y antisepsia en el procedimiento realizado obtuvo bajos índices de infección (4%). Su bajo índice de recidivas se publicó después de cuatro años y medio de seguimiento (7%).

Ilustración 9. Edoardo Bassini (1844-1924 d.C.)

Tomado de: <http://www.historia-de-la-hernia.com/historia-de-la-hernia/1924/>



Bassini introdujo varios avances quirúrgicos, cuya finalidad era la construcción de una pared posterior que lleva el arco del restaurando la oblicuidad del encima del cordón la

avances en la técnica construcción de una pared transverso al arco de Poupard, canal inguinal al suturar por aponeurosis del oblicuo mayor.

Su técnica se fue degradando y los cirujanos que decían realizar la técnica de Bassini, no abrían la fascia transversalis y no llevaban el arco del transverso sino el músculo oblicuo interno al arco de Poupard<sup>5-7</sup>.

Alexander Ferguson nació en Ontario en el año 1853. En 1890, se declaró en contra de la reparación de la pared posterior del conducto inguinal y a la movilización de las estructuras del cordón. Su técnica se basaba en suturar la fascia transversal en una posición lateral en relación con el anillo interno y suturando el músculo oblicuo interno al ligamento inguinal. Lo que Ferguson realizaba realmente era apretar en anillo interno en relación lateral al lugar por donde salía el cordón. A continuación, procedía al cierre de la aponeurosis del oblicuo externo. “... *No se trastorna el cordón. Nunca he estado satisfecho con levantarlo y desplazarlo. En más casos de los que se han registrado, el testículo ha quedado en riesgo a causa de este procedimiento innecesario. Arrancar el cordón de su lecho carece de justificación anatómica para recomendarlo, Déjese el cordón tranquilo, que siga por su gran camino a lo largo del cual viajan los elementos indispensables para la perpetuidad de nuestra especie...*”<sup>8-9</sup>.

William Halsted (1852-1922), nacido en Baltimore, resalta la necesidad de reconstruir el anillo interno, el cual debía quedar lo más ajustado posible. La técnica realizada es en principio semejante a la Bassini, ya que secciona la aponeurosis del oblicuo mayor, abriendo la fascia transversalis y aislando el cordón espermático, preservando el músculo cremáster y ligando los pequeños vasos del cordón para reducir el tamaño y extirpar el saco herniario en el cuello del mismo. En cambio, el cordón quedará en situación extraaponeurótica<sup>9</sup>.

Ilustración 10. William Halsted (1852-1922 d.C)

Tomado de: [https://en.wikipedia.org/wiki/William\\_Stewart\\_Halsted](https://en.wikipedia.org/wiki/William_Stewart_Halsted)

George Paul La Roque (1876-1934) se graduó en 1902 en la Universidad de Pennsylvania. Presentó en Abril de 1919 el documento que tituló “*The permanent cure of inguinal and femoral hernia: A modification of the standard operative procedures*”. En dicho escrito describía su técnica, que consistía en entrar en cavidad peritoneal a través de una incisión, separando las fibras musculares en la parte superior del conducto inguinal, a través de la cual pasó por arriba del anillo inguinal interno y efectuó la disección con un instrumento romo para exponer la hernia desde el interior. Durante la intervención procedía a la apertura del saco, disecando el mismo e invirtiéndolo, sujetando así el fondo y empujando de nuevo en dirección al interior de la cavidad peritoneal. Defendió el abordaje transabdominal, ya que ofrecía el lograr la ligadura alta tras eliminar el saco herniario desde el interior del abdomen, ofreciendo así el máximo de garantías. Publicó otros tres informes más (1922, 1924 y 1932) que resumían su experiencia con casi 2,000 herniorrafias inguinales. Actualmente los cirujanos conciben que la contribución de La Roque es aplicable principalmente a las hernias deslizantes e encarceladas o estranguladas<sup>9,10</sup>.

George Lenthal Cheatle (1865-1951) estudió en la Merchant’s Taylor School y el King’s College de Londres. Cheatle promulgó la vía de abordaje extraperitoneal y la preperitoneal para la hernioplastia inguinal. En sus inicios el acceso que utilizaba era la línea media, modificándola por la incisión de Pfannenstiel posteriormente. Gracias a esta vía de acceso, la aponeurosis transversal era visible de manera continua y se podía reparar con facilidad. Cheatle desaconsejaba esta técnica para la reparación de la hernia inguinal directa, ya que quedaba inevitablemente oculta la pared posterior del conducto inguinal, deformándose por la retracción de los músculos rectos “... *La operación se efectúa sin abrir el peritoneo. Se delimita el saco entre el anillo interno y la superficie*

*del peritoneo mediante deslizamiento de la punta del dedo índice entre ellos y la arteria y la vena iliacas externas. Se liga el saco a nivel de la superficie peritoneal. Se tira hacia el espacio subperitoneal la parte del saco que se extiende hacia el conducto inguinal hasta el sitio que pueda llegar, se liga tan abajo como sea posible, y a continuación se le permite volver hacia el conducto inguinal; de esta manera no podrá actuar como guía para la hernia recurrente. La operación no es aplicable a la hernia inguinal en la que existen adherencias intestinales dentro del saco. Hasta ahora sólo he operado casos seleccionados...”<sup>9,11</sup>.*

En 1890 nace Earle Shouldice, quien propuso un tipo de reparación anatómica en 1950 que pasó a denominarse “reparación canadiense” o “reparación Shouldice-Bassini”. La técnica se basa en la sujeción de la aponeurosis del músculo transversario y del oblicuo menor, fijándolo mediante una sutura con alambre de acero inoxidable al arco del transversario por detrás del ligamento iliopúbico, por debajo del ligamento de Poupard y por delante de la aponeurosis del oblicuo mayor.

Chester Bidwell McVay (1911-1987) nació en la ciudad de Yankton (South Dakota), graduándose en la Northwestern University School of Medicine en el año 1938.



Ilustración 11. Earle Shouldice (1890-1965 d.C.)

Tomado de: <http://www.shouldice.com/our-history.aspx>



Ilustración 12. Chester MacVay (1911-1987 d.C.)

Tomado de: <http://www.sohah.org/zona-socios/historia-de-la-hernia/chester-mcvay-1911-1987/>

Un avance de primera importancia en la técnica de la reparación de hernia inguinal fue

la utilización del ligamento ileopectíneo o de Cooper como lugar de fijación de la pared parietal medial, en lugar del ligamento de Poupart. Dicha maniobra quirúrgica pasó inadvertida hasta que, gracias al trabajo realizado por McVay, fue dada a conocer. Con sus estudios anatómicos, tras más de 300 disecciones en cadáveres, llegaron a la conclusión de que era necesario insertar la fascia transversalis y la aponeurosis del músculo transverso en el ligamento de Cooper.

McVay plasmó los pasos de su procedimiento en el documento presentado en la Central Surgical Association en el año 1948. Dicha técnica tuvo un éxito tal para la reparación de la hernia directa que fue establecida como procedimiento sustitutivo de la operación de Bassini, tomando como epónimo “reparación de McVay”, conocida comúnmente en nuestros días: “... una vez terminada la reconstrucción de la pared inguinal, se deja caer al cordón espermático sobre esta nueva pared y se cierra sobre él la aponeurosis del músculo oblicuo externo... lo que produce un anillo inguinal subcutáneo apretado en la posición normal...”<sup>13,14</sup>.

Que la fascia transversalis era uno de los pilares fundamentales en la reparación de la hernia inguinal era bien conocida por autores como Bassini y Halsted. Es por ellos que mostraron su preocupación en las hernias directas cuando el tendón conjunto se presentaba con signos de atrofia. Fue entonces cuando, en 1903, Halsted publica un trabajo en el que expone las incisiones de descargas como solución al problema, las cuales se hicieron populares en EEUU y más tarde en Europa.

En los años 1940 y 1950 surgió la alternativa de colocar una prótesis para reforzar la zona de debilidad. Se utilizaron, en un principio, metales como por ejemplo el acero y el tántalo. Fue Halsted quien dijo: “... si fuésemos capaces de encontrar un material con unas características parecidas a las de la fascia o tendón, habremos llegado al secreto de la cura radical de la hernia...”, considerando como características principales de dicho material el que fuera químicamente inerte, que no fuera modificado por fluidos tisulares, que no produjera reacción inflamatoria ni fuera carcinogénico, no produjera alergias resistiera tensiones mecánicas y que pudiera ser esterilizado y fabricado para dicho fin. Esto fue posible cuando, en 1954, Usher publicó sus resultados en los que utilizaba prótesis de polipropileno, creándose así un nuevo abanico de técnicas quirúrgicas para la reparación de hernias<sup>4,6</sup>.

Irving L. Lichtenstein, nacido en 1920 en Pennsylvania (Philadelphia). Fue uno de los propulsores del concepto de la reparación de la hernia como cirugía ambulatoria, pudiéndose enviar al paciente a su domicilio en las primeras 24 horas tras la cirugía.

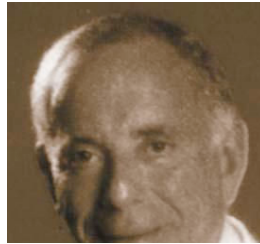


Ilustración 13. Irving Lichtenstein (1920-2000 d.C.)

Tomado de: <https://cirugiabarrosluco.wordpress.com/2012/06/06/hernias-de-la-pared-abdominal/>

En 1986 publica su trabajo *Hernioplastia Libre de Tensión*, técnica la cual consiste en fijar la prótesis artificial a la cara anterior del oblicuo menor y el ligamento inguinal, sin anclar el tendón conjunto al ligamento inguinal ni al iliopubiano, dejando pasar el cordón a través de una incisión en la prótesis. También contribuyó en el campo de la reparación del hernia colocando un tapón protésico en el orificio herniario, ya sean estas directas o indirectas, obturando así dicho orificio. El material utilizado para la formación de estas prótesis fue el polipropileno, ya que por sus características de mayor fuerza tensil, mejor penetración de fibroblastos sobre la prótesis, mayor capacidad de fijación y menor posibilidad de infección era la que mejor cumplía las condiciones de prótesis ideal. Debido a que se convirtió en la técnica con menor índice de recidivas, la técnica de hernioplastia sin tensión fue aceptada mundialmente como la de elección<sup>15,16</sup>.

Y llegamos así, finalmente, hasta nuestros días, donde la cirugía laparoscópica ha revolucionado el mundo quirúrgico, no pudiendo ser menos el tratamiento de este tipo de patología. La cirugía laparoscópica nace originalmente en el campo de la ginecología en el año 1989, siendo utilizada posteriormente en cirugía general, teniendo su mayor auge en la colecistectomía. A medida que se van perfeccionando técnica e instrumental, se abre todo un abanico de posibilidades aplicando dicha cirugía a prácticamente todos los procedimientos quirúrgicos.

Los primeros reportes de este tipo de cirugía se encuentran en el año 1982, cuyo artífice

fue Ger, el cual utilizaba únicamente clips para cerrar el orificio inguinal interno. Más tarde, en el año 1989, fue Bogjavalenski quien propuso ocluir el saco indirecto en una malla de polipropileno. Ya en 1992 Carlos y Antonio plantearon la apertura longitudinal del peritoneo con posterior liberalización del saco, disecando así ampliamente los colgajos peritoneales y colocando una malla de grandes dimensiones que se sujetaba con grapas para cubrir los orificios interno, directo y femoral; Y por atrás de ello se cerraba el peritoneo aislando la malla de la cavidad peritoneal.

El éxito de este tipo de cirugía va a depender del conocimiento anatómico profundo, incluyendo las estructuras músculo aponeuróticas y la familiaridad con el peritoneo, la disección adecuada y la posterior plastia mediante una malla amplia que cubra el defecto herniario <sup>17-20</sup>.

### 1.1.2 Historia de los biomateriales

Para ayudar a restablecer las funciones de los tejidos dañados, existen antecedentes documentales sobre la utilización de materiales en Medicina que se remontan al uso de ciertos metales y otros productos naturales en el antiguo Egipto y durante civilizaciones clásicas como la griega y la Romana. En Europa, ya se utilizaban en el siglo XVI tanto el oro como la plata para la reparaciones dentales y, más tardíamente, hierro para inmovilizar fracturas óseas. Ya en el siglo XIX se desarrollaron aleaciones de metales con unas mejores propiedades mecánicas y que eran más resistentes a la corrosión. En pleno siglo XX, el desarrollo de los polímeros desembocó en el descubrimiento de materiales para fabricar sutura capaces de ser degradadas y absorbidas por el organismo.

En la segunda guerra mundial se impulsó la fabricación de prótesis e implantes de materiales que eran tolerados por el organismo, debido la necesidad de rehabilitar a los inválidos de guerra.

El desarrollo de nuevos biomateriales y sistemas para utilizar en Medicina, y que sean fisiológicamente eficaces y a la vez funcionales mecánicamente, ha sido meteórico en los últimos años. Entre los años 40 y 50, el desarrollo y la investigación de los implantes fue realizado prácticamente de forma exclusiva por cirujanos. Entre los años 50 y 75 se estudiaron las características de los biomateriales para implantes y prótesis,

como se integraba tras la implantación a lo largo del tiempo, su naturaleza tóxica y la respuesta inflamatoria provocada <sup>55</sup>. Fue en la década de los años 60 cuando se publicaron los primeros estudios referentes a las lesiones producidas tras la presencia del implante, introduciéndose así el término de biocompatibilidad, el cual define el grado de tolerancia del organismo con respecto a la prótesis.

La posibilidad de poder analizar y obtener las piezas implantadas en animales en diferentes periodos de tiempo, nos ha permitido esclarecer los mecanismos por los cuales puede fracasar un implante intentar disminuir los mismos. El punto de inflexión se marca en el año 1969, en el que se incorpora a la medicina otras disciplinas como la ingeniería, la biología y la bioquímica, introduciéndose técnicas para caracterizar la estructura y la superficie de los materiales y el estudio de la respuesta celular.

Entre los años 1975 y 2000 que el estudio se centró sobre todo en el conocimiento de las interacciones biológicas del tejido con el biomaterial, incorporando técnicas de biología molecular y de ingeniería tisular. El desarrollo de biomateriales ha discurrido de forma paralela con los avances conseguidos en otros campos, influyendo sobre este de manera decisiva: la investigación de las propiedades físico químicas y o mecánicas de los materiales, el conocimiento de los procesos biológicos desencadenados como consecuencia del contacto del material con el tejido o, por ejemplo, el diseñar una prótesis con características y propiedades mecánicas determinadas.

Pero, ¿qué es un biomaterial?

Como ya definimos en el punto anterior, se denomina biomaterial a los productos que se utilizan para reproducir la función realizada por tejidos vivos en los sistemas biológicos, ya sea de forma temporal o permanente, que se implanta en el organismo y trata de restaurar el defecto producido y, en ocasiones, conseguir la regeneración tisular <sup>56,57</sup>.

El límite para las materias utilizadas con este fin es que el biomaterial en contacto con el tejido no de producir ningún tipo de alteración. Los biomateriales están constituidos por un conjunto de materiales cuya principal característica es la gran diversidad que presentan, entre los que se incluyen metales, cerámicas, vidrios, acero y otras aleaciones metálicas, polímeros sintéticos de múltiples clases, polímeros naturales, tejidos biológicos modificados, etc <sup>58</sup>. Desde el punto de vista de su funcionalidad, existen yo materiales que contienen drogas (medicamentos), otros que incluyen células vivas



constituyendo los llamados “biomateriales híbridos”, otros denominados como “biomateriales inteligentes” que poseen compuestos con la capacidad de responder a señales.

Todo biomaterial, para ser implantado, ha de cumplir unos requisitos que se engloban en el concepto de biocompatibilidad, en el cual se considera la tolerancia del material del cual está compuesto, subió estabilidad tanto a corto como largo plazo, mantenimiento de sus propiedades y de su estructura químico-física en el entorno biológico durante el tiempo que vaya a permanecer en el organismo<sup>56,58</sup>. Además, han de poseer unas propiedades químicas y mecánicas específicas para asegurar la función para la que están diseñadas. Esta viabilidad de la funcionalidad es crítica y está relacionada con la capacidad que posee el material para desempeñar su papel en una aplicación concreta, garantizándose a largo plazo la función del órgano o tejido donde se implanta.

Por tanto, los requisitos que ha de cumplir un biomaterial puede resumirse en:

- 1- ser biocompatibles y aceptado por el organismo receptor, no desarrollando en este mecanismos de rechazo ante la presencia de dicho material;
- 2- no ha de ser tóxico ni carcinógeno;
- 3- ha de ser estable químicamente o bien biodegradable en productos que resulten no tóxicos, al menos durante un tiempo establecido, ya que hay biomateriales que son biodegradables y biomateriales que son permanentes;
- 4- han de tener una óptima resistencia y propiedades mecánicas;
- 5- el diseño, el tamaño y la forma que presenta el implante han de ser los adecuados.

Además, hay que añadir a toda esta serie de características que el coste sea reducido, para poder conseguir una fabricación reproducible y un procesamiento fácil para su producción.

El biomaterial ideal ha de poseer una superficie química dinámica que posibilite en la interfase del implante cambios histológicos que puedan ocurrir normalmente se implante no estuviera presente en el tejido. Un biomaterial ha de ser inerte desde el punto de vista de la resistencia a un una agresión química, pero sólo lo suficiente para no desestabilizar histológicamente la secuencia de reacciones que sean de producir tras

la implantación. Pueden sufrir un proceso de desgaste por corrosión (debido a la actividad química de los componentes que posee), de fatiga superficial (al formarse pequeñas fracturas que pueden acabar con la rotura del material), y de desgaste por abrasión (partículas de una superficie que se desplazan hacia otra a la cual se adhieren).

Si queremos determinar la biocompatibilidad de un biomaterial han de realizarse ensayos que orienten sobre su comportamiento que simulen el entorno fisiológico<sup>59</sup>.

Tras superar los ensayos in vitro de la biocompatibilidad del biomaterial, pasan a ser probados in vivo, implantando el material en animales de experimentación<sup>60</sup>. En ellos se va a determinar la respuesta del organismo a la implantación del biomaterial, analizándose el tipo de células presentes en el implante y las cercanías al mismo, valorando si se ha producido inflamación o si se ha desarrollado un proceso de rechazo. Hay que tener en cuenta, además del tipo de animal seleccionado, el tejido donde se realiza la implantación, el tiempo de la implantación y escoger modelos de animal a estudio cuyos resultados se puedan extrapolar al ser humano.

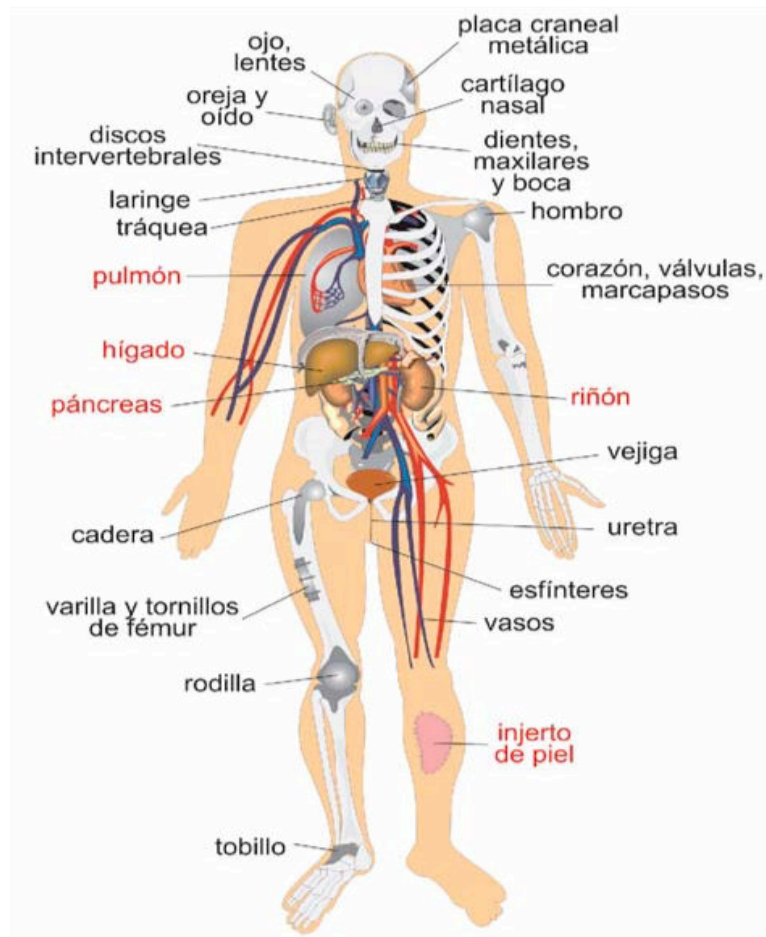


Ilustración 14. Tejidos u órganos dañados cuya función se puede, o se podría, restaurar por implantación de prótesis o de órganos bioartificiales (en rojo).

Tomado de la página 230 del artículo “*Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular*”

Aunque la respuesta de los tejidos al “cuerpo extraño” implantado depende de las características del mismo, las reacciones tisulares producidas tras la implantación de un biomaterial se pueden catalogar como una reacción inflamatoria inmediata y que puede ser intensa en caso de inducir el rechazo del material implantado. Se producen modificaciones hemodinámicas, edema local y varios mediadores pueden incrementar la tensión capilar e hipoxia tisular. La zona del implante puede ser invadida por células sanguíneas; la intensidad de llegada de leucocitos y la reacción proteolítica está correlacionada con las propiedades “irritantes” del implante. Al final, los cambios sufridos por los tipos celulares que infiltran el implante y la liberación de mediadores por las células presentes pueden inducir la reparación tisular. Con respecto a los biomateriales reabsorbibles, la reacción tisular es diferente. En dichos implantes se aprecia una capa continua de macrófagos a lo largo de la interfase y no se observa fibrosis progresiva ni inflamación en los tejidos adyacentes.

## 1.2 PARED ABDOMINAL

Realizaremos un breve resumen de la embriología de la pared abdominal, realizando una breve parada sobre la región inguinal debido a su importancia en este tipo de patología, anatomía funcional y topografía, haciendo mayor énfasis en la región anterior y en las laterales, ya que la posterior se utiliza menos frecuentemente a la hora de abordar la cavidad peritoneal.

A su vez, los planos posteriores son importantes respecto a la flexión de la columna vertebral, no incidiendo en la dinámica de la pared. La importancia en la integridad de la misma, radica en cómo afecta a la funcionalidad y, por tanto, a la calidad de vida del paciente.

### 1.2.1. Embriología de la pared abdominal

Embriológicamente, la pared abdominal procede del ectodermo y mesodermo, que iniciándose en la región vertebral avanza abrazando la cavidad peritoneal para unirse finalmente en un tracto fibroso situado entre ambos músculos rectos del abdomen: la línea alba<sup>23</sup>.

La distribución de los elementos nerviosos y vasculares de la pared abdominal son similares a los de la pared torácica, distribuyéndose de forma metamérica (segmentaria).

La somatopleura, originada por meso y ectodermo, va a constituir la pared primitiva, careciendo de elementos vasculares, nerviosos o musculares<sup>23,26</sup>.

A ambos lados de la columna vertebral van a originarse los miotomos, de los cuales se generará una lámina muscular que irá avanzando por ambos laterales para unirse en la línea media sobre la 12ª semana, quedando un defecto en la misma para la posterior formación del anillo umbilical que permanecerá hasta el nacimiento<sup>23,27</sup>.

Como consecuencia del desarrollo anormal del intestino medio, se pueden observar en el recién nacido dos situaciones similares, pero con características clínicas propias. Una de ellas es el onfalocele, que ocurre debido a que el asa intestinal primitiva no regresa a la cavidad abdominal y ocupa un saco herniario rodeado por amnios y piel. Este defecto suele acompañarse de un defecto de la pared abdominal por alteraciones en la diferenciación de los hipómeros de los somitas lumbares, lo cual causa un defecto en la musculatura, fundamentalmente del recto anterior del abdomen. Cuando el defecto es muy grande, puede verse expuesta al exterior la vejiga urinaria (extrofía vesical).

El otro defecto que ocurre como consecuencia del desarrollo anormal del intestino medio es la hernia umbilical congénita, en la que a diferencia del onfalocele, ocurre el proceso de reingreso del asa intestinal primitiva hacia la cavidad abdominal, pero como consecuencia de la presión intraabdominal acompañada de la debilidad de la pared, el asa vuelve a salir al exterior.

Por migración longitudinal se desarrollarán los músculos rectos del abdomen, mientras que de la lámina muscular lateral se va a generar una división que dará lugar a tres capas: interna, media y externa que darán lugar a los músculos transversos, oblicuo menor y oblicuo mayor y serratos, respectivamente<sup>23,27</sup>, pudiendo visualizarse ya a partir de la 7ª semana.

### 1.2.2 Anatomía de la pared abdominal

Como límite superior de la pared abdominal anterolateral tenemos ambos rebordes costales y el esternón en la parte medial. El límite inferior va estar constituido por las crestas ilíacas, ambos ligamentos inguinales y medialmente por las sínfisis del pubis.

De forma práctica, la región abdominal va a dividirse en nueve cuadrantes<sup>23,24</sup>:

- Epigastrio y ambos hipocondrios en la parte superior;
- Mesogastrio o región umbilical y ambos flancos en la parte media;
- Hipogastrio y ambas fosas ilíacas en la parte inferior.

En profundidad, iremos encontrando desde la piel hasta el peritoneo las diferentes capas de las que se compone la pared<sup>22</sup>. En general: piel, tejido celular subcutáneo, fascia,

músculo, fascia (dependiendo si nos encontramos por encima de la región umbilical ésta estará presente o no) y peritoneo.

Estas capas dependerán de dónde nos encontremos topográficamente, ya que no es homogénea, presentando así zonas de debilidad que predispondrán al individuo a padecer la patología base de esta tesis, las hernias <sup>25,26</sup>.

- a. PIEL. De acuerdo a su espesor, la piel puede dividirse en fina, mediana y gruesa. La epidermis tiene gran capacidad de regeneración ante cualquier lesión y su nutrición se efectúa por difusión desde los planos vasculares subyacentes. En la capa reticular de la dermis, las fibras de colágeno se disponen en forma paralela. La dirección de las fibras varía según las distintas regiones del cuerpo, y da lugar a las líneas divisorias de Langer. Las incisiones quirúrgicas que siguen a estas líneas van a dejar una cicatriz mínima. La irrigación arterial de la piel puede dividirse en tres niveles: vasos segmentarios, los cuales son continuación de la aorta; vasos perforantes y vasos cutáneos, los cuales son para nutrir la piel y para la termorregulación. La inervación se va a efectuar en todas las capas de la piel (órgano-sensorial).
- b. TEJIDO SUBCUTÁNEO. Puede clasificarse en laminar, célula-adiposo e hipergraso, dependiendo del predominio existente entre las fibras y células conectivas respecto al tejido adiposo.
- c. PLANO MUSCULOAPONEURÓTICO. Comprende 3 grupos musculares:

**Músculos dorsales** (dispuestos en tres planos):

1. Plano profundo o de los canales vertebrales:

- a) Músculo transverso-espinoso
- b) Músculo dorsal largo
- c) Músculo sacrolumbar

d) Músculo espinosodorsal

2. Plano medio:

a) Músculo serrato menor posteroinferior.

3. Plano superficial:

a) Músculo dorsal ancho y aponeurosis lumbar

**Músculos laterovertebrales:**

a) Músculo cuadrado lumbar

b) Músculo psoas ilíaco

**Músculos ventrolaterales:**

a) Músculo transverso del abdomen

b) Músculo oblicuo interno o menor

c) Músculo oblicuo externo o mayor

d) Músculo recto del abdomen

e) Músculo piramidal Los músculos transverso y oblicuos interno y externo hacia delante forman la vaina de los rectos y la línea blanca.

*Músculos craneales:*

a) Diafragma toracoabdominal

*Músculos caudales:*

a) Diafragma pelviano

d. ESPACIO EXTRAPERITONEAL. Está situado entre la superficie interna de las paredes musculoponeuróticas del abdomen cubierta por sus fascias de

revestimiento y el peritoneo parietal definitivo. Se pueden distinguir 4 espacios preperitoneales:

1. *Espacios lateroperitoneales*: a nivel de las fosas ilíacas internas, con los vasos ilíacos externos, gonadales y nervio genitocrural.

2. *Espacios preperitoneales*: a nivel del ligamento redondo y hacia abajo, comprenden los espacios prevesical (**Retzius**) y retroinguinocrurales (**Bogros**).

3. *Espacio subperitoneal o pélvico*: comprende un mediastino visceral y los espacios lateroviscerales vasculonerviosos.

4. *Espacios retroperitoneales (ERP)*: la fascia subperitoneal se divide en una hoja ventral o prerrenal y otra dorsal o retrorrenal,

- e. PERITONEO. El peritoneo parietal definitivo limita una cavidad cerrada (excepto en la mujer a nivel de las trompas de Falopio). Alberga los órganos intraperitoneales, y a su vez se subdivide en espacios y regiones que son útiles en la exploración y en los procedimientos quirúrgicos intraperitoneales y en las vías de abordaje transperitoneales de las estructuras extraperitoneales.

#### 1.2.2.1 Planos musculoaponeuróticos de la pared abdominal

Las principales estructuras musculoaponeuróticas son 8:

- a) Diafragma toracoabdominal.** Es el principal músculo inspiratorio y está cubierto cranealmente por la pleura diafragmática y caudalmente por el peritoneo diafragmático.
- b) Diafragma pelviano.** Consta de un diafragma aponeurótico (formado por distintas aponeurosis musculares) el cual soporta las presiones intraabdominales;



un diafragma muscular, de características dinámicas que interviene en la contención y evacuación; un diafragma urogenital; un espacio interdiafragmático superior e inferior y las fosas isquioresctales.

- c) **Músculo oblicuo externo o mayor.** Cada banda tiene su inserción de origen en la cara externa y borde inferior de las siete últimas costillas.

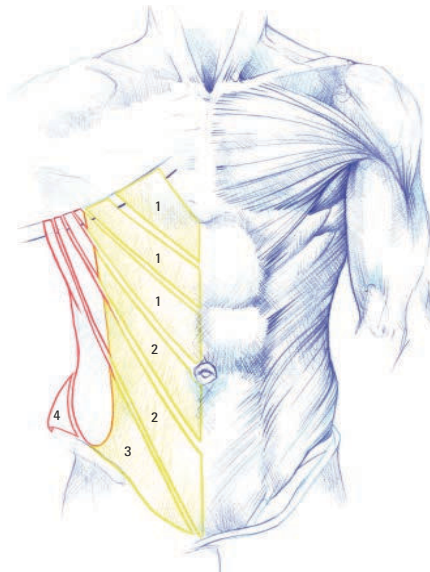


Ilustración 15. **Músculo oblicuo externo o mayor.** 1-sector costoabdominal epigástrico, 2-sector costoabdominal hipogástrico, 3-sector costoinguinal, 4-sector costoiliaco

Tomado de la página 161 del libro *“Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”*

- d) **Músculo oblicuo interno o menor.** Se origina en la cresta ilíaca, espina ilíaca antero- superior y la fascia ilíaca. Termina en las costillas 10<sup>a</sup>, 11<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup>, en la línea blanca.

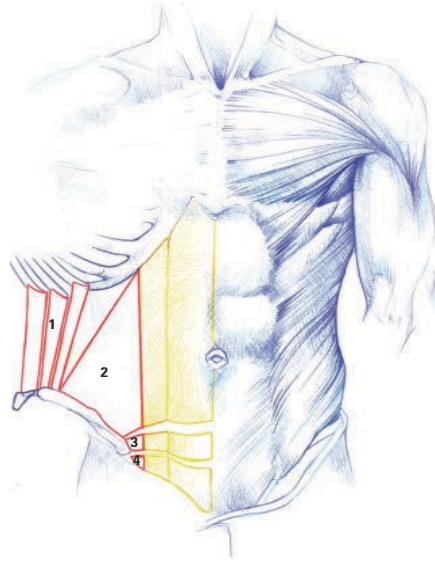


Ilustración 16. Músculo oblicuo interno o menor. 1-sector iliocostal, 2-sector ilioabdominal, 3-sector inguinoabdominal, 4-sector inguinopubiano.

Tomado de la página 162 del libro “Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”

- e) **Músculo transverso del abdomen.** Tiene múltiples orígenes: costal, en la cara interna de las 6 últimas costillas, vertebral, en las apófisis transversa de las vértebras lumbares por intermedio de la aponeurosis dorsal; ilíaco, en los 2/3 ventrales de la cresta ilíaca; e inguinal, en el 1/3 lateral de la fascia ilíaca. Se continúa con la aponeurosis ventral del transverso en el límite musculoaponeurótico denominado línea semilunar o de Spiegel, que forma una curva cóncava hacia medial entre el apéndice xifoides y el nivel del orificio inguinal profundo.

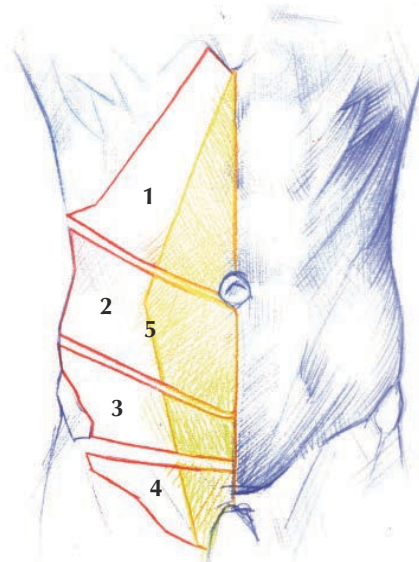


Ilustración 17. Músculo transverso. 1-sector toracoabdominal, 2-sector lumboabdominal, 3-sector ilioabdominal, 4-sector inguinopubiano, 5-ala línea semilunar de Spiegel

Tomado de la página 163 del libro “Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”

- f) **Músculos rectos del abdomen.** La inserción craneal o torácica se efectúa en un ancho de 8-9 cm por medio de fascículos carnosos yuxtapuestos o digitaciones. Estas digitaciones adoptan una disposición en escalera, de arriba hacia abajo y de fuera hacia dentro. Las inserciones de ambos rectos forman una V abierta hacia arriba. La inserción caudal o pelviana se hace a nivel del pubis por intermedio de un tendón aplanado y cuadrilátero que se divide en dos fascículos: uno lateral y otro medial. El ligamento de **Henle** es una formación fibrosa inconstante, de forma triangular falciforme con base inferior, que se fija en el ligamento de **Cooper** y la cresta pectínea.

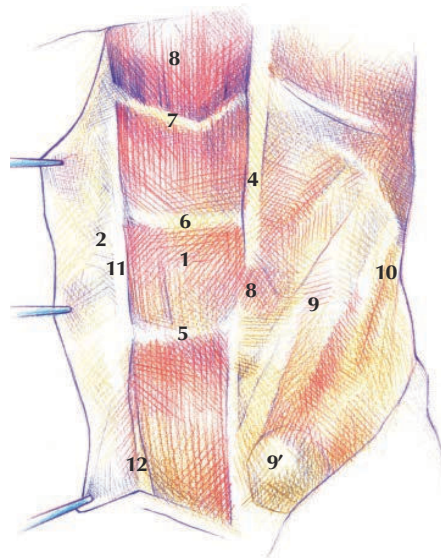


Ilustración 18. 1-músculo recto, 2-hoja ventral, 3-ombigo, 4-línea alba, 5-6-7-8-metámeras subumbilical, umbilical, xifoumbilical y xifoidea, 9-preperitoneo, 10-peritoneo, 11-hoja dorsal vaina rectal, 12-fascia transversalis

Tomado de Tomado de la página 164 del libro “Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”

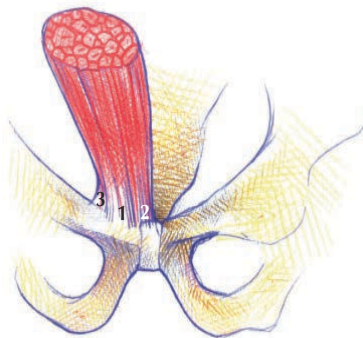


Ilustración 19. Inserción caudal del recto abdominal. 1-fascículo lateral, 2-fascículo medial, 3-ligamento de Henle

Tomado de Tomado de la página 164 del libro “Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”

**g) Músculo piramidal del abdomen.** Situado entre el pubis y la línea blanca, ventral a los rectos. Su función es la tensión de la línea blanca.

### 1.2.2.2 Vascularización de la pared abdominal anterior

Las arterias de la pared abdominal anterior comprenden *ramas superficiales y profundas*. Las *tres ramas superficiales* de la arteria femoral irrigan la porción infraumbilical, siguen un trayecto ascendente en el tejido celular subcutáneo y se distribuyen desde la parte lateral a la medial, en la forma siguiente: arteria iliaca circunfleja superficial, epigástrica superficial, y pudenda externa superficial. La arteria epigástrica superficial se anastomosa con la contralateral y todas estas arterias se anastomosan con las arterias profundas

Las *arterias profundas* se encuentran entre el oblicuo menor y el transverso del abdomen y son la 10ª y la 11ª arterias intercostales superiores, la rama anterior de la arteria subcostal, las ramas anteriores de las cuatro arterias lumbares y la arteria iliaca circunfleja profunda. La irrigación de la vaina del recto proviene de las arterias epigástricas superiores, ramas de las mamarias internas y de las inferiores, ramas de las ilíacas externas, que se anastomosan entre sí.

La sangre venosa de la pared abdominal drena en su parte superior por las venas torácicas laterales en las venas axilares y en su parte inferior por las venas epigástrica superficial y safena en las venas femorales. Además, existe un grupo de finas venas periumbilicales que drenan la sangre de la porción central de la pared abdominal hacia la vena porta, a través de las venas del ligamento redondo del hígado. Estas constituyen una vía muy importante de anastomosis entre el sistema portal y el sistema venoso periférico, ya que toda la red de venas superficiales de la pared abdominal se anastomosan entre sí.

### 1.2.2.3 Inervación de la pared abdominal anterior

Los músculos rectos y anchos del abdomen están inervados por las ramas anteriores del 7º al 11º nervios intercostales y por el nervio subcostal torácico 12º, en adición al primer nervio lumbar. Además, de estos nervios proceden ramas perforantes que inervan los tegumentos que los cubren, siguiendo la distribución de las somitas correspondientes. El nervio subcostal inerva el músculo piramidal. El primer nervio

lumbar forma los nervios abdominogenital mayor y menor, también llamados iliohipogástrico e ilioinguinal, respectivamente.

### 1.2.3 Pared abdominal: Fisiopatología y biomecánica

Es importante en cirugía entender los mecanismos fisiológicos de la pared muscular abdominal para elegir posteriormente la técnica de reparación más adecuada. El músculo, pues, tiene propiedades elásticas con función de producir fuerzas y trabajo mecánico.

Las propiedades del tejido muscular van a ser la excitabilidad eléctrica mediante potenciales de acción, contractilidad (isotónica e isométrica), extensibilidad y elasticidad<sup>29</sup>.

Respecto a los mecanismo de acción de los músculos de la pared abdominal, los músculos anterolaterales del abdomen van a participar en los mecanismos de contención, movimiento, respiración, evacuación y líneas de tensión y de fuerza<sup>30</sup>.

- a. Mecanismos de contención: La firmeza de la pared abdominal va a depender principalmente de su tono muscular, ya que mantiene a las vísceras en su posición y oponiéndose a la acción de la gravedad en la posición de pie y sentado. Las fibras de los músculos anchos forman un verdadero corsé alrededor del abdomen.
- b. Mecanismos de movimiento: la contracción de estos músculos no produce solamente el acortamiento entre la distancia entre el tórax y el pubis sino que actúa indirectamente sobre otros puntos de acción como la metámera, la línea alba, la hoja anterior/ventral de la vaina del recto y puntos óseos, como asimismo provoca el descenso de músculos sinergistas<sup>31</sup>.
- c. Mecanismos de respiración: tenemos dos grupos como son inspiradores y espiradores, pudiéndolos dividir ambos en principales y en accesorios<sup>32</sup>.

- d. Mecanismos de evacuación: la contracción de los distintos grupos musculares del abdomen provocan el aumento de presión de la cavidad.
- e. Líneas de tensión y de fuerza: Al realizarse incisiones en la pared anterolateral del abdomen como vías de abordaje a la cavidad peritoneal y espacios extraperitoneales, se debe evitar siempre que sea posible la sección perpendicular sobre estas líneas, ya que producen retracción de los cabos, tensión sobre la zona cicatricial y mayor aparición de eventraciones.

La tensión generada por las paredes abdominales y el volumen de su contenido están equilibrados en condiciones normales. Si este equilibrio se rompiera, por causas que modifiquen alguna de estas variables, como consecuencia se producirán alteraciones locales y sistémicas de variable gravedad, de acuerdo a la intervención y suficiencia de mecanismos adaptativos, etiología y tiempo de evolución<sup>33</sup>.

La relación entre la tensión del tejido muscular y el volumen del contenido van a dar lugar a la presión intraabdominal. Las presiones ejercidas sobre la pared anterior/ventral del abdomen van a ser presiones positivas, que se miden en centímetros de agua.

Dichas presiones inciden sobre todos los puntos de la pared abdominal de una forma homogénea, según las leyes de la física hidráulica, y lesionan sus puntos débiles, congénitos o adquiridos, ya sea por incisiones quirúrgicas o traumas accidentales. En decúbito supino la presión intraabdominal de 8 cm H<sub>2</sub>O, tanto en la parte superior del hemiabdomen como en la inferior, pero por solo estar la persona de pie, las presiones en el hemiabdomen inferior llegan a alcanzar los 35 cm H<sub>2</sub>O mientras que en el superior continúan es de 8 cm H<sub>2</sub>O y durante la defecación, la micción o el parto pueden llegar hasta 150 o 180 cm H<sub>2</sub>O<sup>34</sup>.

Por todo lo expuesto, pues, podemos deducir que un aumento exagerado de dichas presiones unido al desequilibrio en alguno de los puntos de debilidad de la pared abdominal, darán paso a lo que denominamos hernia o eventración, si dicha debilidad ha sido creada a partir de una cicatriz postincisional.

#### 1.2.4 Etiopatogenia de la hernia incisional (evisceración y eventración)

Cualquier laparotomía o lumbotomía va a suponer una incisión de todos los planos anatómicos de la pared abdominal, con el objetivo de acceder a la cavidad peritoneal o al espacio retroperitoneal y contenidos. Finalizada la intervención, la pared abdominal se cierra casi siempre mediante sutura. Normalmente, la cicatrización evoluciona de forma estable, rápida y sin complicaciones, dejando una herida consistente y firme. Cuando esto no ocurre, de manera muy temprana (postoperatorio casi inmediato) puede aparecer una dehiscencia aguda a nivel de los planos anatómicos, surgiendo una evisceración o, más tardíamente, una eventración (también denominada hernia incisional, hernia laparotómica o laparocèle)

En la evisceración se produce una dehiscencia brusca (parcial o total) de la herida durante el postoperatorio inmediato como consecuencia de un defecto «debilitador» en el proceso de la cicatrización dando como resultado una ruptura con separación de los bordes peritoneoaponeuróticos y a veces incluso la piel. Es una situación grave, que facilita la protrusión y salida visceral a través de la herida, siendo tributaria de cirugía urgente<sup>35</sup>.

En la eventración ocurre de manera similar, también por un defecto en la cicatrización, pero a diferencia del caso anterior transcurre de forma solapada o inadvertida. La mayor parte de los estudios son de la opinión de que es en los primeros momentos del período postoperatorio (primeros treinta días) cuando se presentan estas pequeñas disrupciones en la fascia<sup>36</sup> (Figura 1.2.1, donde se aprecia la ganancia de resistencia mecánica en el proceso cicatricial, siendo las áreas sombreadas los períodos “críticos” de aparición de evisceración y eventración).



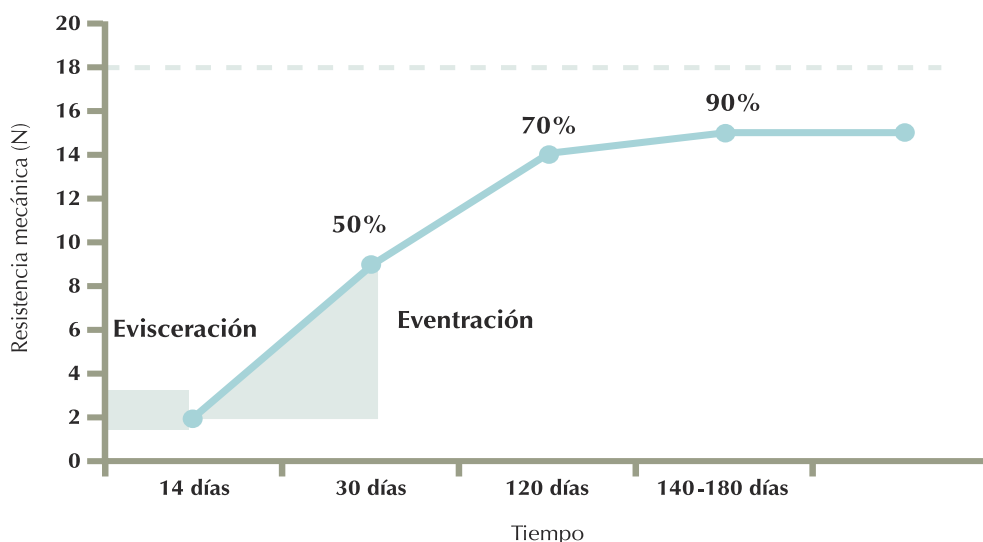


Ilustración 20. Relación resistencia mecánica-tiempo cicatrización

Tomado de la página 183 del libro *“Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”*

Este defecto en el proceso de cicatrización es debido a la presencia de varios factores etiopatogénicos<sup>37</sup>, aunque cada uno de ellos se comporta frente a los demás con una notable relevancia causal en el desarrollo de la eventración.

Tal y como de manifiesto la literatura, el conocimiento etiopatogénico de la hernia incisional es complejo, problemático y limitado; existiendo además una notable disparidad de resultados aportados por la bibliografía, incluso en ensayos aleatorizados.

Generalmente se denominan como «factores de riesgo» a las circunstancias, sus causas y los diferentes mecanismos patogénicos que, en la mayoría de los casos, actúan de forma combinada y hasta simultánea, pero rara vez de forma aislada. De este modo, unos van a identificarse como expresión del potencial mórbido de ciertas enfermedades, y otros como determinadas situaciones anatomofisiológicas del abdomen, de la técnica quirúrgica, del cirujano o del transcurso postoperatorio del paciente y de la herida<sup>38</sup>. Y es en esta donde se centran y concentran los efectos patogénicos expresados por dichos factores, precursores de la hernia incisional.

La mayor relevancia etiopatogénica la adquiere el conocimiento de ciertos condicionantes biológicos que suceden o acontecen en el paciente eventrado, los cuales explicarían con mayor claridad y precisión aquellos factores que favorecerían o motivarían el defecto reparativo/cicatrizal en la herida, y su transcurrir hacia la eventración.

Es admitido que casi siempre hay coexistencia de varios factores de riesgo que facilitan, cooperan o causan el desarrollo de la eventración, pero «paradójicamente» la bibliografía nos muestra a que mientras algunos de ellos presentan validez estadísticamente significativa en unos artículos, en otros carecen de ella.

Casi siempre, existe una interrelación entre los factores de riesgo e influyen con mayor o menor intensidad según determinadas circunstancias generales (enfermedades), locales (mecánicas) y biológicas (metabólicas y moleculares) que, de alguna forma debilitan o anulan la resistencia fisiológica de los tejidos involucrados en la cicatrización de la herida quirúrgica<sup>39</sup>. Como consecuencia directa, los bordes de los tejidos suturados no soportan las fuerzas protrusivas ejercidas por la presión intraabdominal, y menos aún las fuerzas distensivas o diastantes (tangenciales), debida a la tracción permanente de la musculatura ancha sobre la herida y que se ven favorecidas por las primeras. La suma de ambas fuerzas da como resultado la definitiva fuerza disruptiva que, progresivamente, debilita los tejidos normales (factor mecánico) o produce una mayor fragilidad de los tejidos débiles o ya debilitados por otros factores (ictericia, colagenopatías, obesidad, esteroides, etc.) que las dislaceran de forma lenta y progresiva, hasta que hacen protruir el peritoneo, solo o con contenido<sup>40</sup>.

Finalmente, en ocasiones se observan algunas hernias incisionales sin factores de riesgo evidenciables (obesidad, diabetes, correcta técnica, cirujano experto, relaparotomía, vejez, desnutrición, etc), debido a que por determinadas alteraciones metabólicas se induce el fallo de ciertos mecanismos moleculares fundamentales durante alguno de los periodos de la cicatrización (factores biológicos).

#### 1.2.4.1 Factores de riesgo implicados en la eventración<sup>41</sup>

I) Factores relacionados con el enfermo:

- a) Edad: Aunque la mayor parte de la literatura señala que existe una mayor incidencia de eventraciones a partir de los 60 años, la edad no se considera estadísticamente como un factor determinante, pero sí es evidente que el envejecimiento debilita el proceso de cicatrización por razones básicamente metabólicas. Hay evidencia de que las enfermedades «quirúrgicas» en la tercera

edad son más prevalentes, complejas y graves, y debilitan el conjunto musculofascial.

- b) Sexo: mientras que en algunos estudios, tal vez la mayoría, se aprecia una diferencia estadísticamente significativa a favor del sexo masculino, en otros la diferencia no es tal, siendo explicable tal discordancia por los planteamientos metodológicos utilizados.
- c) Obesidad<sup>42</sup>: El paciente, desde el sobrepeso a la obesidad extrema, tiene este factor de riesgo, aunque casi siempre además otros factores con potencial eventrógeno: tabaquismo<sup>43,44</sup>, diabetes, riesgos mecánicos para el cierre, etc. lo que dificulta la posibilidad de que la obesidad se presente como «único» factor de riesgo.
- d) Desnutrición: Si la desnutrición es grave, el aumento de la morbimortalidad postoperatoria es hasta tres veces más respecto de la prevista en un paciente normonutrido, de ahí la importancia del aporte nutricional preoperatorio o, al menos, postoperatorio precoz en la prevención de las complicaciones en general y las de la pared abdominal en particular.
- e) Anemia: Los síndromes hemorrágicos con pérdidas súbitas de volumen y masa celular (al menos de 1 000 ml de sangre) condicionan alteraciones biológicas notables en los mecanismos de la cicatrización, que inducen hasta tres veces más al desarrollo de hernia incisional<sup>45</sup>. Algunos autores también señalan como factor de riesgo un nivel de hemoglobina preoperatoria menor de 10 g/l, aunque en este grupo de pacientes encuentran otros factores cooperantes (como la obesidad, la relaparotomía y los tratamientos postoperatorios con catecolaminas), todos ellos capaces de alterar de forma estadísticamente significativa el proceso de cicatrización.
- f) Neoplasia: si la neoplasia que presenta el paciente es de corta evolución, las tasas de eventración serán similares a las de la población normal; en cambio si es de mediana o avanzada evolución, la proporción de hernias incisionales aumenta porque, además, existen nuevos factores de riesgo (desnutrición,

anemia crónica, hipoproteinemia, quimio-radioterapia neo- o adyuvante, etc.), sin contabilizar los de causa técnica<sup>46</sup>. Por tanto, hay una gran influencia entre neoplasia evolucionada y hernia incisional.

- g) Infección sistémica: Los enfermos intervenidos que presentan infección intraabdominal, bien sea por una peritonitis difusa o un absceso localizado, la eventración posterior se presenta en más del 50% de los casos tras 6 años de seguimiento<sup>47</sup>, aunque es verdad que muchos de estos pacientes presentan otros factores de riesgo.
- h) Insuficiencia renal/Urinemia: Pacientes que presentan insuficiencia renal o con uremias reversibles presentan riesgo para desarrollar una hernia laparotómica. Este riesgo se incrementa cuando se utiliza la lumbotomía como abordaje, y alcanza una prevalencia del 31,3 %, de las que el 80 % se desarrollan en el primer año del postoperatorio<sup>48</sup>.
- i) Diabetes: Es uno de los factores de riesgo más influyentes en cirugía, debido a la mayor prevalencia de infección en estos enfermos. Hay evidencia relevante sobre las alteraciones tisulares de la cicatrización y la presencia de microangiopatía en el diabético, y son numerosos los artículos en los que el factor diabetes mantiene una influencia estadísticamente significativa, con el desarrollo de hernia incisional, en presencia o ausencia de infección de herida.
- j) Cirrosis: Esta enfermedad hepática provoca un estado disfuncional en la síntesis celular de proteínas. Las consecuencias metabólicas son capaces de debilitar los tejidos y que estos sean frágiles ante los aumentos de presión intraabdominal. Además, la ascitis actúa como factor de riesgo al añadir un ambiente húmedo a la línea de sutura, complicando el proceso reparativo de la herida<sup>49</sup>. En estos casos, además, se añade el factor mecánico, debido a la distensión generada por la presencia de líquido intraperitoneal, que genera un aumento de la presión intraabdominal.
- k) Ictericia: La impregnación hepática por la bilirrubina soluble disminuye la capacidad de síntesis proteica celular (especialmente de albúmina) y produce un

defecto en el metabolismo proteico, notablemente importante para el proceso biológico de la síntesis de colágeno<sup>49</sup>.

- l) Enfermedad pulmonar obstructiva crónica: Los incrementos de presión intraabdominal debido a la tos, que presentan con bastante frecuencia, irritativa, persistente o productiva, son capaces de producir desde pequeñas dislaceraciones a desgarros en el anclaje de los puntos, lo que crea una situación propicia para el desarrollo de una eventración<sup>50</sup>.
  
- m) Inmunosupresión: La inmunosupresión va a disminuir por sí misma la respuesta celular en la síntesis proteica en general, y la del colágeno en particular<sup>46</sup>. A estos estados inmunodeficitarios se llega en el transcurso de muchas enfermedades incluso, transitoriamente. Por razones de su patología se les mantiene, con terapias esteroideas, de quimioterapia o inmunosupresoras, que merman aún más el proceso de cicatrización.
  
- n) Radioterapia: El efecto de la radioterapia sobre el proceso de cicatrización de las heridas está documentado ampliamente en la bibliografía<sup>41</sup>. El deterioro de los tejidos es más intenso cuando se realiza la irradiación preoperatoria, pero la continuidad postoperatoria en su aplicación aumenta los efectos hipóxicos, micronecróticos, fibróticos y endarteríticos actínicos, perturbadores todos ellos de cualquiera de las fases de la cicatrización, con una servidumbre de riesgos prolongada en el tiempo<sup>56</sup>.

## II) Factores en relación con la técnica:

- a) Trauma o sección de pedículos vasculonerviosos musculofasciales: En las incisiones se debe evitar en lo posible el traumatismo o la sección de ramas nerviosas y ramas vasculares (directas o perforantes) de los tejidos musculoaponeuróticos, para conservar mejor la irrigación, viabilidad y el trofismo posibles de los tejidos limítrofes a la herida; ya que tales efectos traumáticos durante la incisión debilitan la pared y crean una incapacidad para contrarrestar la presión intraabdominal sobre la herida.
  
- b) Forma de apertura: Parece no existir diferencias entre realizar la apertura con

bisturí frío o con electrobisturí. Una disección traumática o incorrecta de la aponeurosis va a provocar distintas alteraciones que pueden provocar alteraciones en la cicatrización<sup>57,58</sup>.

- c) Tipo de incisión: las incisiones en línea media provocan menos alteraciones a la hora de posibles secciones de elementos vasculares y nerviosos, aunque seccionan longitudinalmente todo el entramado del entrecruzamiento fibrilar aponeurótico de la línea alba, generando un debilitamiento inicial que puede por se acabar generando una eventración. La incisión paramediana o pararectal interna es el único tipo de abordaje que presenta menor número de complicaciones –y concretamente, de hernias incisionales–, debido a la doble incisión aponeurótica pararectal interna, sin lesionar a este músculo<sup>59</sup>. Las incisiones transrectales transcurren longitudinalmente por el tercio medio del músculo recto anterior, produciendo denervación y áreas subisquémicas por lesión vascular, generando eventraciones. La incisión pararectal inferior «corta», tipo Jalaguier, para la apendicectomía, produce escasas eventraciones<sup>60</sup>, pero la ampliación proximal debilita más la pared y facilita la hernia incisional; aún más cuando el paciente tiene sobrepeso o un IMC compatible con obesidad grave/mórbida<sup>42</sup>. Las incisiones subcostales ofrecen un buen campo operatorio, aunque seccionan los músculos rectos y ramos nerviosos, por lo cual son potencialmente eventrógenas, aunque el cierre es fortalecido por una sutura en dos planos. Las incisiones transversas respetan bastante más la inervación intercostal porque la incisión es paralela al recorrido metamérico de los nervios, por lo que además de mantener el tono muscular provocan menos dolor, siendo este tipo de incisión la menos eventrógena de todas<sup>45</sup>.
- d) Tipo de cierre<sup>51</sup>: La sutura continua o a puntos sueltos no presenta una diferencia estadísticamente significativa, según varios estudios realizados. El cierre por planos o en masa parece que queda a favor del segundo, aunque existe algún estudio realizado que muestra lo contrario, por lo que existe controversia. La tensión aplicada en la sutura también constituye un factor de riesgo, siendo sobre todo en las suturas a puntos sueltos donde se ejerce un mayor efecto isquémico y desgarrador<sup>52</sup>.

### III) Factores relacionados con el postoperatorio:

- a) Infección de la herida: hoy día se admite que la infección de la herida es uno de los factores de riesgo más relevantes en el origen de una eventración, debido a que la infección genera un grave trastorno del proceso biológico de la eventración<sup>72</sup>.
- b) Relaparotomía: Es un hecho que el riesgo de aparición de hernia incisional va a aumentar con cada reintervención. El 12% de las eventraciones reparadas requiere una nueva reoperación en los 5 años siguientes, y las nuevas recidivas se desarrollan cada vez en menos tiempo<sup>53</sup>. Con cierta frecuencia se relaparotomiza a un paciente por la misma incisión o por otra (paralela u oblicua). En el primer caso, la herida presenta un deterioro por la fibrosis. En la segunda, se pueden crear zonas hipoperfundidas, avasculares, o lesionar ramas nerviosas que atrofiarían y debilitarían la cicatriz en esas zonas, y por consiguiente predisponiendo a la eventración.

#### 1.2.4.2 Factores biológicos en la génesis de la eventración

Existe una clara evidencia (más aún en pacientes con procesos herniarios recidivados) sobre la existencia de alteraciones a nivel del metabolismo del tejido conectivo, en el que el colágeno ocupa un papel relevante, especialmente en patología herniaria. El colágeno es la proteína más representativa de la matriz extracelular, existiendo más de 20 tipos diferentes en el organismo humano<sup>54</sup>. Se sintetiza principalmente por los fibroblastos, siendo necesaria para su síntesis la hidroxilación de dos aminoácidos (la prolina y la lisina), de forma que se consigue una buena estabilidad en la conformación de la fibra de colágeno<sup>55</sup>.

Dentro de los tipos de colágenos, el tipo I es el que forma parte de las estructuras de fascias, tendones, ligamentos y piel<sup>54</sup>, mientras que el tipo III se encuentra en los mismos tejidos, y de forma especial durante el proceso reparativo tisular<sup>61</sup>.

El remodelado de la matriz extracelular está modulado por unas enzimas denominadas metaloproteinasas (MMP). Existen 23 tipos diferentes de estas enzimas, que se dividen en colagenasas, gelatinasas, estromelisininas, matrilisininas y otras MMP<sup>62</sup>. Las clásicas

colagenasas (MMP-1, MMP-8 y MMP-13) están implicadas en la degradación de los colágenos tipo I, II y III, mientras que las gelatinasas (MMP-2 y MMP-9) degradan colágeno IV y proteoglicanos<sup>63</sup>. La MMP-2 también degrada colágenos I, II y III. Las colagenasas y gelatinasas son probablemente las MMP más implicadas en la herniogénesis<sup>64</sup>.

Los TIMP son unos inhibidores que van a regular la actividad de estas MMP; de los cuales existen 4 tipos (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 y TIMP-4)<sup>65,66</sup>.

Los estudios de factores biológicos implicados en la aparición de hernia incisional han sido escasos, a diferencia de lo que ha ocurrido con los factores biológicos implicados en la génesis de la hernia inguinal. Quizás la razón obedezca a que en la hernia incisional existen factores extrabiológicos (ya mencionados) lo que probablemente hace que dichos factores biológicos hayan quedado relegados a un segundo plano.

Como principales factores biológicos se encuentran aquellos implicados en el proceso reparativo de las laparotomías. Este proceso sigue las mismas directrices que el de una cicatrización normal, habiendo algunas connotaciones que lo hacen peculiar.

Primero, es la única estructura que realiza un efecto de «contención» es la fascia, por lo que en ella es donde ha de realizarse el proceso reparativo. En este tejido los mecanismos que regulan la proliferación de los fibroblastos y la síntesis de colágeno aún no están bien definidos. No se ha conseguido establecer la correlación existente entre respuesta proliferativa de los fibroblastos a nivel del ciclo celular y el fallo de la cicatrización, cuando ésta se produce<sup>63</sup>. Se sabe que la isquemia local puede frenar el ciclo celular, como sucede a veces cuando se realizan cierres bajo tensión o existen situaciones de bajo gasto o hipotensión intraoperatoria.

Tomando un punto de vista estrictamente mecánico, la pared abdominal se va a comportar como una unidad funcional dinámica, con una continua actividad contráctil, debido fundamentalmente a los movimientos respiratorios<sup>50</sup>. No existe el reposo, como ocurre en otras zonas anatómicas en las que el proceso reparativo se realiza bajo estas condiciones (inmovilización de extremidades, etc.).

Factores también puramente mecánicos que ocurren en el postoperatorio (como son el despertar anestésico y cambios en la presión intraabdominal debidos a tos, vómito o



íleo) pueden tener una importante repercusión sobre la pared anterior del abdomen.

Existe una hipótesis propuesta por algunos autores, en la que el tejido aponeurótico de la pared abdominal probablemente también sea un tejido dependiente de señales mecánicas reguladoras de la homeostasis del fibroblasto fascial<sup>67</sup>. Esta teoría de «mecanotransducción» implica que la carga sobre un tejido óseo o blando se transmite a las células estructurales a través de la matriz extracelular, existiendo receptores del tipo integrina que se encuentran localizados en la superficie celular<sup>68</sup>. «Un fracaso mecánico» o una disminución de las «señales mecánicas» (como por ejemplo, el fallo de una sutura) podría ocasionar una pérdida cinética y proliferativa del fibroblasto reparador. Se sabe con certeza que en la reparación de tendones y ligamentos la mecanotransducción es una vía importante para desencadenar la función reparadora de los fibroblastos<sup>69</sup>, por lo que una solución de continuidad en la fascia durante el proceso reparativo podría tener un comportamiento similar (ver la ilustración 21).

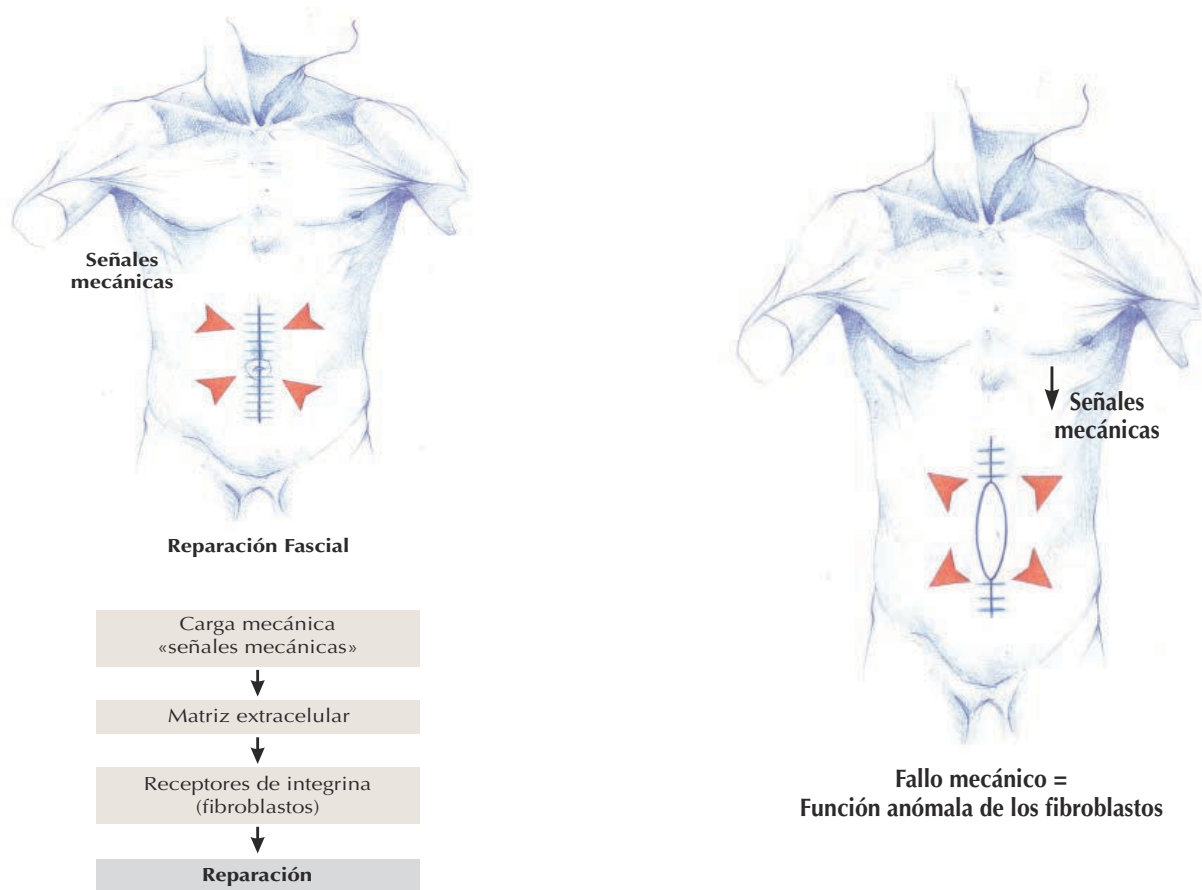


Ilustración 21. Fascia: proceso reparativo

Tomado de la página 189 del libro “Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”

En los estudios realizados por Dubay y cols.<sup>69</sup>, tanto experimentales como en modelos de hernia incisional, se demostró que existían alteraciones en las propiedades cinéticas de los fibroblastos, los cuales eran cultivados tras tomar la biopsia de animales herniados. Al realizar los estudios *in vitro* observaron que dichos fibroblastos presentaban deficiencia para llevar a cabo la contracción de redes de colágeno.

Franz y cols.<sup>70</sup> implicaron algunas citoquinas, en un modelo experimental de hernia incisional en ratas, en la cicatrización de la fascia. Utilizaron tratamiento tópico en el cierre de las laparotomías con TGF-beta recombinante, logrando disminuir así la tasa de hernia incisional. Además, observaron un aumento en los fibroblastos y en el depósito de fibroblastos y del depósito de colágeno tipo I y III detectados por inmunohistoquímica.

En un modelo experimental similar, otro estudio realizado por Dubay y cols.<sup>71</sup> apreciaron que al utilizar el factor de crecimiento fibroblástico (bFGF) vehiculizado en un sistema polimérico para tratar la fascia, disminuye de forma significativa la aparición de hernia incisional. Además, demostraron que los animales tratados con este factor de crecimiento mostraron una mejora en el proceso de angiogénesis y un incremento en el depósito de colágeno.

En distintos estudios realizados por Klinge y cols.<sup>54</sup> y Rosch y cols.<sup>55</sup> se observó la disminución en el balance de colágeno I/III en biopsias de piel y de fascia de pacientes con hernias incisionales recidivadas. También se pudo apreciar en otros estudios, realizados sobre línea alba en pacientes con hernia incisional, la disminución cuantitativa de colágeno I con relación a controles, pero no en la cantidad de colágeno III.

También fueron objeto de estudio las MMP, mencionadas anteriormente, con resultados dispares entre ellos en los trabajos publicados, tanto en la hernia incisional como en la recidivada.

Tras realizar el análisis mediante *Western blot* de tejido facial, Klinge y cols.<sup>54</sup> encontraron un aumento de la expresión de las MMP-1 respecto a los controles, tanto en la hernia incisional como en la recidivada; pero otros autores, en cambio, no encontraron dicha diferencia pero sí en el aumento de expresión de la MMP-2. En estudios posteriores en los que se analizaron diferentes MMP y TIMP de fascia en pacientes con hernia incisional, se aprecia aumento de la expresión de MMP con elevada relación MMP/TIMP.

Resumiendo, una elevación en la actividad de las MMP podría explicar la alteración observada en algunos estudios en la relación colágeno I/III, en pacientes con hernia incisional.

### 1.3 HERNIA ABDOMINAL

Con el término de hernia abdominal nos referimos a la progresión de una o más vísceras abdominales a través de un defecto en la pared de la cavidad donde se alojan, ya sea dicho defecto congénito adquirido (ver ilustración 22).

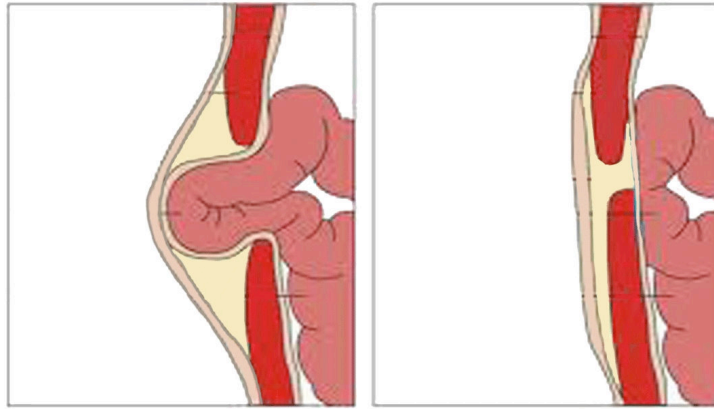


Ilustración 22. Hernia de pared abdominal

Tomado de: <http://www.clinicavascularproctologica.com/hernias/>

### 1.3.1 Clasificación general de las hernias:

Las hernias abdominales externas pueden clasificarse según:

- Localización: inguinales, umbilicales, crurales o femorales, epigástricas, hipogástricas, lumbares y perineales. Particularmente en la hernia inguinal, dependiendo de la localización donde protruya, se van a clasificar en directa, indirecta y mixta, las cuales se denominan también «en pantalón».

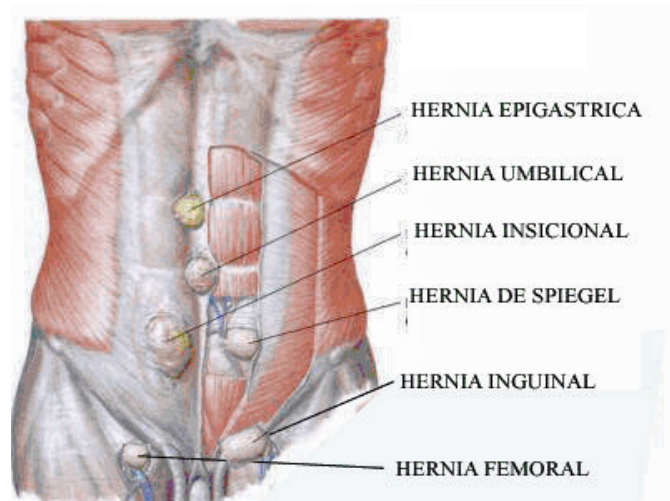


Ilustración 23. Tipos de hernia según su localización

Tomado de: <http://clinica-hernia.com/hernias.html>

- Causa: congénitas o adquiridas.

- Reductibilidad: reductible o irreductible. La hernia irreductible puede ser *crónica*, debido a las adherencias existentes entre las vísceras y el saco herniario o debido a la pérdida de derecho a domicilio, o *aguda*, que es la que se presenta de forma súbita y habitualmente es dolorosa, pudiendo haber compromiso vascular (estrangulada, ver ilustración 24) o no (incaerada).

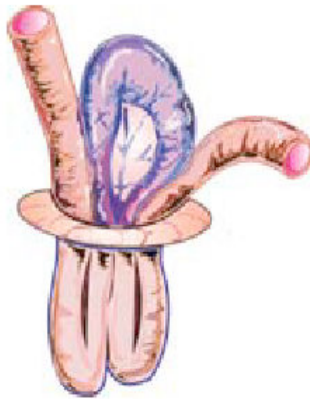


Ilustración 24. Hernia irreductible estrangulada

Tomado de: <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library>

- Relación con el peritoneo: preperitoneal, pudiendo ser completa o deslizada.

### 1.3.2 Hernia inguinal / inguinoescrotal

Con este término denominamos la protusión de un divertículo peritoneal a través de una zona de debilidad de la pared a nivel inguinal. Dentro de este tipo de hernias, podemos diferenciar 3 tipos <sup>93,94</sup>:

- a. Hernia oblicua externa o indirecta: este tipo de hernia es el más frecuente, representando aproximadamente entre el 60 y el 70% de las hernias en el adulto. Está compuesta por un saco herniario que va a protuir lateralmente a los vasos epigástricos, siendo intrafunicular. La mayoría de las veces se tratará de una persistencia del conducto peritoneo vaginal. Dicho saco avanza en forma de “dedo de guante” dentro de la fascia, cremastérica, siguiendo la dirección del cordón espermático. Cuando el saco alcanza el escroto, pasa a denominarse hernia inguinoescrotal.

- b. Hernia directa: en este caso, las vísceras protruyen por la fosita inguinal media, medial a los vasos epigástricos. Generalmente, el saco herniario es más ancho que profundo, correspondiendo a una extensa debilidad en la fascia transversales a la altura de la fosita inguinal media.

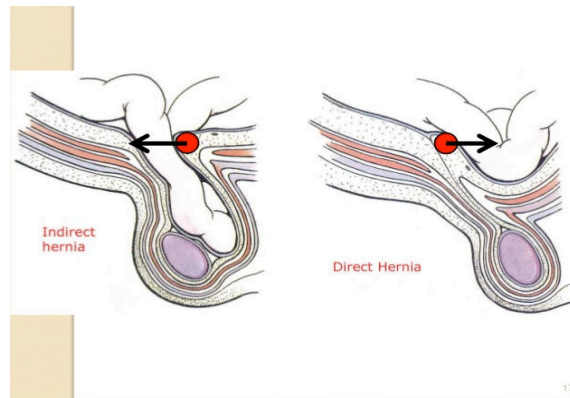


Ilustración 25. Hernia inguinal indirecta VS directa Tomado de:  
<http://es.slideshare.net/MarianelaHervias/caso-clinico-hernia-inguinal-tc>

- c. Hernia oblicua interna: son muy poco frecuentes; el contenido herniario se localiza a la altura de la fosita medial interna, medial a la arteria umbilical, exteriorizándose en el ángulo interno del conducto inguinal.

### 1.3.3 Hernia crural

Son más frecuentes en el sexo femenino. Estas hernias se exteriorizan A través del anillo cultural, media a la vena femoral y por debajo de la arcada cultural. Este orificio va a presentar un cuello reducido, por lo que con mayor frecuencia se van a presentar de forma aguda.

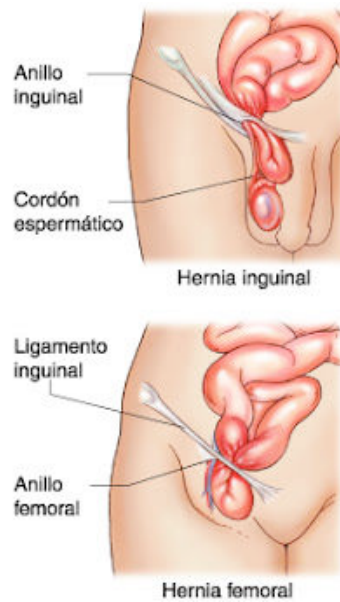


Ilustración 26. Hernia inguinal VS hernia crural

Tomado de: <http://yodelsasqutesa.blogspot.com.es/2012/04/genitales-externos-masculino.html>

#### 1.3.4 Hernia umbilical

Conocemos como hernia umbilical a la protrusión del saco herniario a través del orificio umbilical, debido a un defecto del cierre de la pared abdominal. Este tipo de hernia es más frecuente en pacientes cirróticos con ascitis, mujeres, pacientes obesos, mujeres multíparas, prematuros, niños menores de cuatro años y en adultos mayores de 50 años. Ocasionalmente puede ir acompañada de diástasis de los rectos del abdomen.

#### 1.3.5 Hernia incisional / eventración

Como ya comentamos anteriormente, la hernia incisional consiste en la protusión de vísceras abdominales por una zona debilitada tras una incisión quirúrgica previa.

Podemos distinguir tres elementos fundamentales en toda hernia incisional:

- a. Anillo: formado por los bordes musculares que se han retraído y recubierto de tejido fibroso.
- b. Saco: se origina a partir de la separación músculo-aponeurótica; la parte externa del saco se forma a partir de las fibras que fueron disgregadas y que acaban invadidas por tejido fibroso. La parte interna tiene, macroscópicamente, aspecto peritoneal pero de menor grosor y con el que se continúa más allá del límite que

marca el anillo herniario.

- c. Contenido: Es variable, pudiendo alojar epiplón, intestino delgado, colon, etc.; el cual puede ser reductible o irreductible (incaerado o estrangulado).

### 1.3.6 Otros tipos de hernias

Además de las hernias ya nombradas, existen otros tipos que pasaremos a mencionar someramente:

- a. HERNIA LUMBAR: se origina en la región suprailíaca posteriolateral (triángulo de Petit, cuadrilátero de Grynfelt).
  - Hernia de Petit: el contenido herniado protruye por un triángulo formado por cresta ilíaca, oblicuo interno y dorsal ancho.
  - Hernia de Grynfelt: el cuadrilátero está limitado por la 12<sup>a</sup> costilla, borde posterior del oblicuo interno, el dorsal ancho y el serrato posterioinferior.
- b. HERNIA OBTURATRIZ: el saco se va a introducir por el canal obturador, de forma que generalmente se va a presentar como una hernia estrangulada.
- c. HERNIA DE SPIEGEL: herniación a través de la línea de Spiegel. En la exploración se va a palpar a nivel infraumbilical y lateral a los rectos.
- d. HERNIA PARAOSTOMAL: son aquellas que se surgen a través del orificio de una enterostomía (más frecuente en colostomías que en ileostomías).
- e. HERNIAS PERINEALES LATERALES: Pueden ser anteriores o posteriores.
  - Hernias perineales anteriores: se han descrito solo en el sexo femenino. Protruyen por delante del ligamento ancho, lateralmente a la vejiga o en la fosas paravesical de Waldeyer. A la exploración se puede apreciar como una tumoración a nivel del labio mayor.



- Hernias perineales posteriores: esta herniación es por detrás del músculo transverso del periné, a nivel de la fosa isquiorrectal. El trayecto en el hombre es entre el recto y la vejiga, mientras que en la mujer es entre el recto y la vagina.
- f. HERNIAS ISQUIÁTICAS: el saco se exterioriza a través de la escotadura isquiática mayor, palpándose en la exploración como tumoración a nivel del glúteo, cercana al trayecto del nervio ciático.

#### 1.4 CICATRIZACIÓN. PROCESO DE REGENERACIÓN DE LOS TEJIDOS

Una vez producido un daño tisular, se pone en marcha un proceso dinámico de reparación denominado cicatrización. Aún hoy día la cicatrización, los fenómenos celulares y moleculares que actúan en la reparación tisular, constituye un campo de investigación abierto para permitir comprender los procesos patológicos que alteran dicho proceso.

Genéricamente, podemos distinguir dentro de la cicatrización 3 fases que se solapan en el tiempo:

##### 1.4.1 Fase de hemostasia e inflamación.

Cuando el organismo es expuesto a una agresión, la inflamación es la respuesta del mismo frente a ella, sea cual sea la naturaleza o el origen del causante. Tras la lesión tisular, se inicia la primeramente una vasoconstricción transitoria (en la cual median catecolaminas, tromboxanos y prostaglandina F2-alfa), seguida posteriormente de vasodilatación a nivel local<sup>38</sup>.

El colágeno del endotelio quedará expuesto, tras la solución de continuidad vascular, a las plaquetas, activándose la vía intrínseca de la coagulación. Del tejido dañado va a provenir el factor tisular, el cual estimula a la vez la vía extrínseca. De este modo se

conformará un coágulo en la zona central de la herida, el cual estará formado principalmente por plaquetas y fibrina, apareciendo un infiltrado de células localmente. El coágulo va a constituir una matriz para la regeneración de los tejidos y actuará como reservorio de sustancias que regulan la cicatrización, además de contribuir al control de la homeostasis.

El endotelio de los vasos aumentará su permeabilidad a las proteínas y al plasma, pudiéndose observar al cabo de unas horas un exudado inflamatorio el cual estará compuesto por células y proteínas plasmáticas. Tras la degranulación plaquetaria los factores de crecimiento vertidos intervendrán en la regulación de todo este proceso, factores quimiotácticos que proceden tras la activación del complemento y los péptidos derivados de las proteínas bacterianas.

En las primeras 24 horas las células que van a predominar van a ser los granulocitos, los cuales serán reemplazados posteriormente por monocitos. Estos, al llegar a los tejidos se van a transformar en macrófagos, que tras 48 horas invadirán la zona dañada, para acabar desapareciendo al cuarto o quinto día. Su misión principal será la de eliminar detritus y bacterias, además de regular la llegada de más monocitos y de fibroblastos, liberando también factores angiogénicos y factores de crecimiento que van estimular la emigración de los fibroblastos y de las células del endotelio hasta el área que ha sido lesionada<sup>79</sup>.

La neoformación de vasos comenzará entre el segundo y el tercer día tras proliferar células endoteliales, las cuales provienen de los tejidos antecedentes, y sobre el quinto día aproximadamente los fibroblastos comenzarán a migrar hacia la región dañada.

Gracias a los receptores de membrana de las células que actúan en tal proceso, se regulará la quimiotaxis de las líneas celulares presentes en la reparación. Los linfocitos serán activados gracias a los macrófagos, los cuales a su vez son activados por la liberación de factores plaquetarios que siguen a la agresión de los tejidos. Los macrófagos activan a los linfocitos gracias a unas proteínas que poseen el nombre de citoquinas. Éstas se pueden agrupar en grupos funcionales dependiendo en el momento en el cual actúen, pudiéndose diferenciar así en antiinflamatorias y en pro-inflamatorias.

Los macrófagos van a ser los encargados principales en secretar las citoquinas pro-

inflamatorias, que van a activar y mantener en el tiempo los procesos inflamatorios.

Como citoquinas pro-inflamatorias que actúan en dicha fase podemos destacar:

- 1- Interleuquina 1 (IL-1): va a actuar en las fases iniciales de la cicatrización estimulando la síntesis de células musculares lisas.
- 2- Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa): tiene múltiples funciones; fabricada principalmente por los macrófagos y monocitos, y en menor medida por linfocitos, neutrófilos, células endoteliales y fibroblastos.
- 3- Interleuquina 6 (IL-6): responsable de la activación de los linfocitos T e implicada en la aparición de fiebre.

Existen otras citoquinas que van a ser también mediadores del proceso inflamatorio y que van a actuar en la regulación de las distintas células del sistema inmune, como son la interleuquina 12 (IL-12), interleuquina 15 (IL-15), interleuquina 18 (IL-18) o el interferón gamma (IFN gamma).

Hay descritas además una serie de moléculas relacionadas con la regulación de la inflamación, tales como la ICAM (molécula de adhesión intercelular) y la VCAM (proteína de adhesión celular vascular). Estas moléculas presentan una o varias regiones similares a las moléculas de anticuerpos, denominada "Ig similares", estando implicadas en el proceso de migración a los tejidos que han resultado dañados de los leucocitos<sup>80</sup>.

Como citoquinas antiinflamatorias podemos destacar la interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10), interleucina 13 (IL-13), interferón alfa (IFN alfa) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta). Éste último es un componente presente en unos gránulos, denominados alfa, presentes en las plaquetas y que serán liberados en el período inicial del proceso de cicatrización<sup>81</sup>. Estas citoquinas, como su nombre indica, actúan disminuyendo la respuesta inflamatoria, de forma que disminuye la respuesta inflamatoria (tanto la magnitud como el tiempo o duración de la misma), de forma que progresa el proceso de reparación.

Al activarse los macrófagos se va a desencadenar la síntesis de óxido nítrico, el cual va a ser uno de los elementos principales en el proceso de la cicatrización, actuando además como agente antimicrobiano<sup>82</sup>.

La regulación del metabolismo del ácido nítrico se considera un arma terapéutica para favorecer la reparación tisular, hecho por el cual existen estudios sobre ello. Esta fase perdurará en el tiempo más cuanto mayor sea el grado de infección de la misma.

Esta etapa de hemostasia e inflamación se extenderá hasta el tercer o cuarto día tras el inicio del proceso, solapándose con el comienzo de la fase posterior.

#### 1.4.2 Fase proliferativa.

Esta fase va a tener como referentes a los fibroblastos y a las células epiteliales, empezando a actuar a partir del tercer día. El coágulo de fibrina se verá completamente invadido por dichos elementos celulares gracias a las sustancias secretadas por las plaquetas y los macrófagos, reemplazándose así por tejido de granulación. Al aparecer éste, supone el inicio de la fase proliferativa y tiene como sucesos principales tanto la epitelización como la angiogénesis.

La formación de nuevos vasos o neoangiogénesis va a precisar que estén presentes agentes quimiotácticos y que exista una alteración fenotípica en la célula del endotelio, para que así se genere este complejo proceso. Los factores de la angiogénesis van a ser secretados por macrófagos principalmente y por células locales activadas. Como ejemplos tenemos el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el TGF-beta y el VEGF (factor de crecimiento de la célula endotelial derivado de plaquetas)<sup>83</sup>.

Gracias a la migración de las células endoteliales, desde la periferia hasta el borde de la herida, se formará en el tejido de reparación o de cicatrización una red de capilares que a su vez servirán para la llegada de más células a la zona dañada, junto a oxígeno y otros nutrientes. La red de fibrina irá desapareciendo a medida que aparece el nuevo tejido cicatricial. El fenómeno de la angiogénesis se detendrá cuando el aporte de oxígeno y nutrientes sea el óptimo.

La reparación del epitelio comienza precozmente junto a la neoangiogénesis, siendo favorecida la migración de las células gracias a la expresión de nuevas integrinas en la

superficie celular.

Se ha producido un gran avance en los últimos años sobre la caracterización de las macromoléculas en la matriz extracelular, la cual constituye un material estable que va a rodear a las células que dan soporte a los epitelios del tejido conjuntivo. Sus propiedades físicas son similares a las de un gel de baja densidad o de una solución viscosa. Esta matriz se puede extraer gracias a fijadores acuosos, motivo por el cual no puede apreciarse en los cortes histológicos.

Los elementos que componen la matriz extracelular son:

- Proteoglicanos. Estas complejas moléculas se componen de un eje de proteína al cual van a estar unidos, mediante enlaces covalentes, cadenas de glicosaminos (GAG); entre los que destaca el ácido hialurónico. Éste tiene una alta viscosidad cuando se presenta en solución acuosa, la cual sirve de barrera para la difusión de las bacterias hacia los tejidos.
- Proteínas estructurales (colágeno y la elastina).
- Proteínas de adhesión celular (fibronectina y laminina)<sup>84</sup>

La matriz extracelular va a servir también como depósito para los factores de crecimiento, en condiciones normales. Al producirse la lesión de los tejidos los factores serán liberados y después activados, regulando así el proceso de la reparación<sup>85</sup>.

Las principales células en el tejido conjuntivo serán los fibroblastos, los cuales van a elaborar los precursores de los componentes de la nueva matriz extracelular. La capacidad de regeneración y gracias a la rápida respuesta que presentan éstos, los convierte en los protagonistas principales en la reparación tisular. En todo este proceso, diferentes moléculas van a regular durante la fase proliferativa el equilibrio entre la producción y la destrucción de colágeno.

Existe una familia de proteasas que dependen del zinc denominadas metaloproteínas, que intervienen en los procesos tanto fisiológicos, tales como la cicatrización y formación de órganos, como patológicos, inflamación enfermedades autoinmunes y la carcinogénesis <sup>86</sup>.

La producción del daño tisular va a incrementar tanto la actividad como la expresión de las metaloproteínas, con la salvedad de presentar patrones, en espacio y tiempo, distintos. Mediante sinergismo van a actuar la colagenasa 2 y la gelatinasa B, contribuyendo a la degradación del tejido conectivo que presente un componente inflamatorio excesivo; mientras que otros tipos de metaloproteinasas consiguen su expresión en fases más tardías de la cicatrización <sup>87</sup>.

El objetivo principal, por tanto, será la degradación de la matriz extracelular, aunque se ha comprobado la participación tanto en la angiogénesis como en el proceso inflamatorio mediante el cual actúa sobre moléculas que son bioactivas, como factores de crecimiento y citoquinas, cuyas fuentes principales son los granulocitos y fibroblastos. La actividad colagenolítica va a provocar que las fibras de colágeno pierda la estructura helicoidal que posee. En caso de haber una inflamación mayor de lo esperable, se generará un tejido de granulación que en lugar de favorecer va a provocar la proliferación de fibroblastos, aumentándose el número de proteasas en la matriz y disminuyendo los inhibidores, produciéndose la destrucción masiva de la matriz extracelular temporal, necesaria para la infiltración celular y para la reepitelización <sup>88</sup>.

#### 1.4.3 Fase de maduración o de remodelación.

En esa fase de la cicatrización, el objetivo final es el depósito de colágeno en el tejido lesionado. Las células que no vayan a ser utilizadas serán destruidas mediante la apoptosis.

A diferencia del tejido conjuntivo intacto, la matriz de colágeno que se va a formar tiene una mayor proporción de colágeno tipo III, lo cual hace que este nuevo tejido sea más débil. Más tarde, el colágeno tipo III será reemplazado por el de tipo I, el cual se presenta más estable y es prácticamente similar al original. Este colágeno tipo III será

degradado gracias a las metaloproteinasas de la matriz, que serán estimuladas gracias a los factores de crecimiento<sup>89</sup>.

Al finalizar la fase de remodelación, la proporción de colágeno se estabiliza y la fuerza tensil irá aumentando de forma progresiva, gracias a la formación y al entrecruzamiento de las fibras de colágeno. Una vez transcurridos tres meses el 80% de la capacidad original se alcanzará<sup>90</sup>.

## 1.5 MATERIALES PROTÉSICOS UTILIZADOS EN LA REPARACIÓN DE LA HERNIA DE PARED ABDOMINAL

En la cirugía de hoy en día, el tratamiento quirúrgico de los procesos herniarios se lleva a cabo gracias al empleo de materiales protésicos con fines reparativos, quedando en un segundo plano las reparaciones realizadas con tejidos autólogos. Este drástico cambio en el tratamiento de los defectos de la pared abdominal fue gracias a los resultados obtenidos por el grupo de Lichstentein Y su reparación sin tensión propuesta. Previamente, Usher había publicado trabajos con resultados similares en los que utilizaba el polipropileno para la reparación de dichos procesos.

### 1.5.1 Biomateriales. Respuesta tisular.

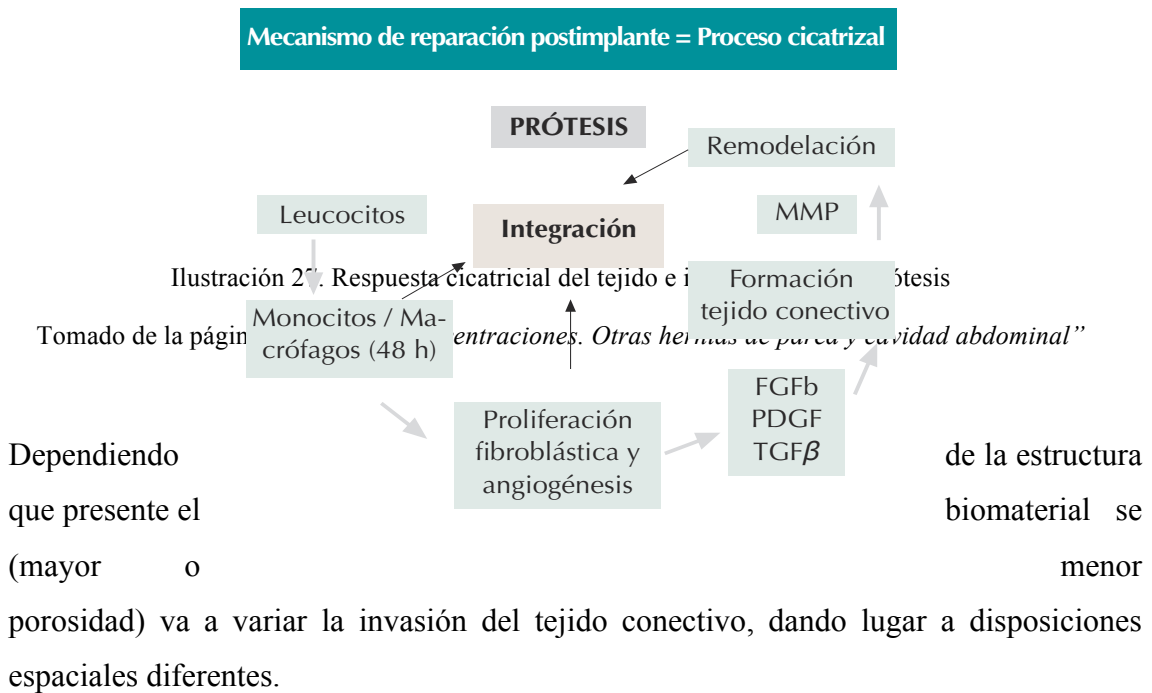
Se denominan biomateriales aquellos materiales de origen natural o sintético, cuya finalidad es la de conseguir una función específica para el organismo, sustituyendo parcial o totalmente a los tejidos dañados.

Como requisito fundamental para el uso de los biomateriales precisa que tras su colocación no se produzcan reacciones negativas o efectos que alteren el sistema biológico del receptor, ya sea local o sistémica mente, es decir que han ser biocompatibles (la biocompatibilidad de un material es la capacidad que tiene para realizar la función con una respuesta adecuada en el receptor)<sup>91</sup>. La zona en la que ha de implantarse el cambio material al estar en perfectas condiciones, ya que de lo contrario cualquier alteración provocaría el rechazo por parte del organismo, aunque sea totalmente biocompatible.

Tras implantar el biomaterial, dará comienzo la reacción inflamatoria con la respuesta

celular cuyo objetivo es iniciar el proceso cicatricial, ya comentado anteriormente. Siempre existirá una reacción por parte del receptor hacia el biomaterial, cuyo fin no es otro que eliminarlo o aislarlo mediante encapsulación<sup>91</sup>. En la figura podemos ver un esquema sobre la respuesta del organismo al daño causado iniciándose la cicatrización sobre la prótesis utilizada.

En el punto 1.6 nos extenderemos ampliamente sobre los biomateriales, características de los mismos, clasificación y los andamios tisulares.



### 1.5.3 Clasificación de las prótesis

Las prótesis se pueden dividir en dos grandes grupos: sintéticas (poliméricas) y naturales (biológicas).



Dentro de las sintéticas o poliméricas podemos distinguir las reticulares, laminares y compuestas.

Las prótesis reticulares van a ser en su mayoría de polipropileno (irreabsorbible), pudiendo ser también reabsorbibles, con un tamaño de poro entre 1 y 4 mm, proporcionando una integración óptima en el tejido del receptor<sup>92</sup>. El tejido conectivo rodeará sus filamentos, formando espirales sobre ellos. Existirá una gran angiogénesis, permitiendo el anclaje a los tejidos del receptor. En estudios de tensiométricos realizados, se ha comprobado que la fuerza tensil obtenida es superior a la de otros materiales protésicos<sup>93</sup>. Dependiendo del tamaño del poro y del diámetro de los filamentos junto con la distribución espacial de estos podemos dividir las prótesis reticulares en alto o bajo peso, dependiendo del parámetro  $g/m^2$ .

Las prótesis de alto peso son aquellas por encima de  $80 g/m^2$ , de media densidad con peso entre 50-80, baja densidad 35-50 y muy baja densidad por debajo de los  $35 g/m^2$ .

Alta densidad	$>80 g/m^2$
Media densidad	50-80 $g/m^2$

Tabla 1. Clasificación de las prótesis atendiendo a su densidad

Tomado de la página 189 del libro “Eventraciones. Otras hernias de pared y cavidad abdominal”

Muy baja densidad	$<35 g/m^2$
-------------------	-------------

A grosso modo, podemos decir que las prótesis de alta densidad serían aquellas con un diseño de poro pequeño mientras que la de baja densidad tendrían un poro amplio. El peso de la prótesis ( $g/m^2$ ) va a depender tanto del tamaño del poro como de la estructura espacial y del anudado o entrecruzamiento que presenten sus fibras<sup>94,96</sup>.

Las prótesis reticulares reabsorbibles tienen un doble fin: reforzar provisionalmente la pared abdominal y realizar de forma simultánea un estímulo para la activación de los

fibroblastos con una sucesiva deposición de tejido conectivo, al que se encomienda la tarea de reforzar la cicatrización. Estas prótesis se constituyen de un polímero de los ésteres del ácido poliglicólico o de un copolímero, derivado de la síntesis de este último con el ácido láctico (poliglactina 910). Las prótesis de ácido poliglicólico se presentan tejidas con una textura trenzada multifilamento, siendo blandas, flexibles, extensibles, modelables y biodegradables; reabsorbiéndose por hidrólisis de forma gradual a los 90 días. La prótesis de poliglactina 910 presentan las mismas características con la salvedad de que no son elásticas<sup>95</sup>.

Estudios histológicos ha probado una insuficiente aposición de tejido fibroso en la estructura de estas prótesis, antes de la terminación de los procesos de reabsorción; por lo que en teoría no se pueden utilizar para la hernioplastia protésica<sup>98</sup>. También su uso como protección de una plastia anatómica (Bassini, Shouldice) o como refuerzo, en forma de «almohadilla», de la aponeurosis transversalis, no ha presentado ventajas en términos de recidiva<sup>97</sup>. Como alternativa temporal a la prótesis de polipropileno, puede utilizarse para el refuerzo de la pared abdominal en presencia de infecciones.

También existen prótesis reticulares con material absorbible, en las cuales hay componentes absorbibles y no absorbibles. Se trata de prótesis de poro ancho y, por tanto, de baja densidad<sup>96</sup>.

El objetivo principal de los nuevos diseños de prótesis de baja densidad son: reducir la cantidad de material extraño que queda alojado en el huésped y dejar una menor fibrosis en el tejido del receptor<sup>94</sup>. La ventaja de reducir la cantidad final de material extraño en el organismo del receptor ha de ser ventajosa, especialmente en pacientes muy jóvenes, ya que en ellos el biomaterial ha de permanecer incluido en los tejidos durante un largo período de tiempo, y aún se desconoce la reacción o los cambios últimos que pueden generarse con el paso de los años. Otra ventaja de estas prótesis es que van a producir una cicatrización menos compacta y menor fibrosis, evitando “rigideces”.

La prótesis reticular ideal es aquella que mejor se adapta a las propiedades fisiológicas de la pared abdominal<sup>93</sup>, teniendo en cuenta que esta no se comporta como un sistema estático, sino que está sometida a cambios de presión continuos. La prótesis ha de soportar la tensión de forma simétrica en todas las direcciones, permitiendo una movilidad homogénea de toda la pared abdominal.

Las prótesis laminares están representadas fundamentalmente por el politetrafluoroetileno expandido (PTFEe). En este caso, la integración es de tipo celular, invadiendo estas los tercios externos de la prótesis. Los vasos no van a penetrar en los intersticios del PTFEe, siendo la interfaz prótesis-tejido receptor no tan buena como en las prótesis reticulares, hecho que también se corrobora por estudios tensiométricos<sup>100</sup>.

Existe una variante de prótesis de PTFEe modificada en la que se suprime la integración celular por la vertiente peritoneal del implante, y dicha integración se efectúa solamente por la vertiente superficial de la prótesis, que va provista de una superficie rugosa.

Pero quizás las diferencias más interesantes que poseen las prótesis laminares respecto a las reticulares son aquellas que acontecen cuando el biomaterial se coloca en contacto directo con el peritoneo visceral<sup>92</sup>.

Estudios realizados sobre la formación de neoperitoneo tanto *in vitro* como *in vivo* en la vertiente protésica en contacto con las vísceras abdominales han demostrado que las características de este dependen de la estructura del material empleado en la reparación<sup>92</sup>.

En estudios realizados se observa ya muy precozmente una red de fibras colágenas recubiertas de células mesoteliales típicas, las cuales se colocan de forma paralela a la superficie protésica y se acompañan sobre todo de fibroblastos y algunas células de reacción a cuerpo extraño (linfocitos, monocitos, células plasmáticas y células gigantes). Tras este período de tiempo, el neoperitoneo se remodela, desapareciendo la mayoría de las células de reacción a cuerpo extraño (lo cual indica la buena tolerancia de la prótesis) y predominando los fibroblastos<sup>92</sup>.

La vascularización mejora y progresa por la interfaz prótesis-peritoneo hasta en un tercio de su área, sin llegar a colonizarla. Paralelamente a la superficie de la prótesis se van a situar las fibras de colágeno, mientras el mesotelio se sitúa por fuera de estas, en contacto con el peritoneo visceral.

Gracias a la formación de este año peritoneo conformado, se evita una de las posibles complicaciones que derivan tras la colocación de una prótesis que se encuentra en contacto con el peritoneo visceral: las adherencias. Por el contrario, las prótesis reticulares de tipo polipropileno, van a generar un nuevo peritoneo con una estructura

desorganizada, textura rugosa, zonas de hemorragia y necrosis que facilitan la aparición de adherencias. La estructura reticular de la prótesis condiciona probablemente una inadecuada disposición sobre la misma de las células mesoteliales<sup>92</sup>. En resumen, con prótesis de tipo laminar se va a conseguir una mesotelización uniforme y rápida, la cual no se llega alcanzar con las prótesis de tipo reticular.

Con el fin de aunar en una sola prótesis las propiedades, tanto de las prótesis reticulares como laminares, han surgido las prótesis compuestas, las cuales han de cumplir los siguientes requisitos: óptima integración tisular, buen comportamiento a nivel peritoneal, buena resistencia mecánica postimplante<sup>101</sup>.

Este tipo de prótesis compuestas se utilizan sobre todo en la reparación de grandes defectos herniarios en la pared abdominal, dónde hay que llevar a cabo una reconstrucción total de la pared abdominal y en la cual no hay suficiente tejido de soporte, quedando en contacto la prótesis con el peritoneo visceral<sup>101</sup>. El principal objetivo de estas prótesis es la de optimizar el comportamiento en relación con la interfaz visceral y evitar complicaciones tales como cuadros de obstrucción intestinal debido a formación de adherencias y fistulas enterocutáneas, debidas al contacto entre el intestino y el material protésico.

Las prótesis compuestas se componen de un biomaterial principal, el cual es el primer componente y es el que cumple la función específica, y de un segundo componente cuya misión es que el componente principal quede ubicado en contacto directo con el peritoneo visceral, modulando el comportamiento a nivel de esta interfaz. Así, el biomaterial principal asumirá el papel de integración tisular mientras que el segundo componente permite una mesotelización correcta<sup>92</sup>. Ambos componentes suelen estar unidos gracias a pegamentos acrílicos, termosellado o incluso mediante sutura.

Los biomateriales del primer componente suelen ser prótesis de tipo reticular, ya sean de polipropileno o de poliéster. El segundo componente, en cambio, suele ser de tipo laminar y puede ser tanto absorbible como no absorbible<sup>101</sup>.

Como alternativa en la reparaciones de la pared abdominal afectada por la infección tenemos materiales nos pueden proporcionar soporte tisular, ya sea temporal o definitivo. Estos materiales se denominan bioprótesis o prótesis biológicas, y están elaboradas con colágenos desnaturalizados y acelulares, procedentes de animales

(xenoinjertos) o de bancos de tejidos humanos (aloinjertos), que supuestamente ofrecerían reparaciones similares a las realizadas con tejidos autólogos. Los resultados de los materiales biológicos dependen de la fuente tisular, de los métodos de procesamiento y de la técnica de reparación de la hernia abdominal. El objetivo de estos materiales es, además de la reparación, la regeneración del tejido. Para alcanzar este último fin, es necesario que el proceso de degradación/regeneración esté controlado. Este control se consigue pretratando las bioprótesis con diferentes sustancias (glutaraldehído, hexametildilsocianato, etc.), que consiguen la estabilidad de estos materiales en un medio en el que las diferentes colagenasas pueden degradarlas.

Así conseguiremos que, una vez implantado, estimule los elementos de la matriz extracelular del receptor, favoreciendo la formación de vasos y estimulando factores de crecimiento para la formación de un nuevo tejido, es decir, una neopared abdominal. Algunas de ellas poseen como característica fundamental la degradación y eliminación completa dentro del organismo receptor.

Para la fabricación de dichas prótesis de colágeno, se necesita obtenerlo y tratarlo eliminando el contenido celular, quedando solamente los componentes de la matriz: Colágenos I, III, IV y elastina. De esta forma se busca minimizar la respuesta inmunitaria del receptor para que la respuesta inflamatoria al implante sea mínima. Las técnicas de procesamiento físicas, enzimáticas y químicas pueden tener efectos considerables en la composición, comportamiento mecánico y respuesta del huésped al implante biológico. Suelen tener un buen comportamiento de la interfaz peritoneal, generando un buen mesotelio, de forma que se comportan como prótesis de tipo laminar<sup>103</sup>. Han de presentar una buena resistencia mecánica, ya que menudo son utilizadas para la reparación de zonas anatómicas que están sometidas a un movimiento activo, como por ejemplo en el caso de la pared abdominal y torácica o los diafragmas.

La resistencia mecánica de estas prótesis biológicas se fundamenta en su estructura y en las uniones de la triple hélice del colágeno. En condiciones in vivo, los colágenos son degradados por enzimas como las metaloproteinasas e incluso por gérmenes cuando hay contaminación. Por ello, los implantes en los que las fibras de colágeno no posean buenos enlaces tienden a sufrir reabsorción rápida<sup>104</sup> y, además, no proporcionan un óptimo soporte tisular. En una palabra, fracasan en su función final. Lo ideal funcionalmente es que estas bioprótesis no sufran una degradación rápida y se

mantengan estables hasta ir consiguiendo paulatinamente su incorporación total al tejido receptor. Para conseguir esto, es necesario que los enlaces covalentes (enlaces tipo crosslinking) de la triple hélice que constituye la molécula de colágeno sean eficaces; de lo contrario, la firmeza mecánica se verá comprometida.

Para clasificar estas bioprótesis nos podemos basar en la especie de origen, (animal – xenogénico– o humano –alógeno), en la procedencia del tipo de matriz tisular (dermis, pericardio, submucosa intestinal), y en la presencia o ausencia de enlaces entre las moléculas de colágeno *crosslinking*).

#### 1.5.4 Complicaciones de los implantes

Tras colocar el implante protésico en el defecto herniario, las complicaciones que pueden derivar de dicho acto pueden ser:

- a) Seroma / Hematoma. Son colecciones que se forman en la interfaz superficial del implante. Se puede evitar su aparición colocando un drenaje aspirativo en el lecho quirúrgico. Suelen aparecer con mayor frecuencia si el implante está colocado en la zona subcutánea<sup>91</sup>.
  
- b) Infección. Este tipo de complicación puede tornarse grave, obligando en ocasiones a tratamientos prolongados. Cuando se produce una infección, se altera el proceso de la integración celular de los materiales, interfiriendo en los mecanismos de reparación tisular y originando en el receptor alteraciones que pueden conducir más tarde a la recidiva herniaria.

De los materiales que se utilizan para este tipo de reparaciones, es el propileno el que mejor tolera la colonización de los gérmenes. Quizás, al tratarse de una prótesis reticular, los macrófagos y demás células defensoras pueden llegar con mayor facilidad al lugar de implante. Cuando se trata de biomateriales laminares, los gérmenes se pueden acantonar en la prótesis, sin posibilidad de que los macrófagos lleguen a penetrar en ella<sup>102</sup>. Los gérmenes que con mayor frecuencia producen la contaminación son los estafilococos (*S. aureus* o *S.*

*epidermidis*), aunque en algunos casos puede observarse una flora mixta, generalmente de ambiente hospitalario. Si el biomaterial que se contamina es el polipropileno, a veces es sólo una pequeña parte de la prótesis la que queda afectada por la infección, reintegrándose porque los tejidos<sup>95</sup>. Se puede realizar en este caso una exéresis parcial de la prótesis, dejando que cicatrice por segunda intención.

Pero si el material es laminar o microporoso, como el PTFEe, generalmente nos veremos obligados a retirar la prótesis, lo que nos conducirá en la mayoría de los casos a la recidiva de la hernia, otras veces la infección aparece de forma tardía. Esto suele ocurrir cuando los gérmenes, una vez adheridos contaminan el material y generan *biofilms*, los cuales los hace resistente a los macrófagos y a los antibióticos. Pueden permanecer en estado silente, y cuando el receptor tiene una disminución de defensas o entra en inmunodepresión por el motivo que sea, puede desencadenarse la infección sobre el biomaterial.

- c) Fístula enterocutánea. Tras la reparación y colocación de prótesis, puede aparecer esta grave complicación, la cual se debe a que la prótesis (generalmente macroporosa) queda en contacto directo con el intestino, de forma que lo erosiona. El intervalo de tiempo desde que se coloca la prótesis hasta que aparece la fístula es muy variable, habiendo casos descritos en los que la aparición cursó tras años desde la intervención.

Esta complicación acaba con la infección secundaria del biomaterial, debiendo ser este retirado y teniendo que tratar la comunicación intestinal con el exterior, desconectando el trayecto y tratando el polo intestinal. En caso de tratarse de una fístula cólica, a veces es necesario realizar una colostomía en un primer tiempo, hasta que el proceso de infección remita y desaparezca, retirándose es posible en ese mismo tiempo el biomaterial o bien posteriormente tras una segunda intervención.

La reparación definitiva en caso de recidiva herniaria ha de llevarse a cabo cuando las condiciones de la pared abdominal sean óptimas y no quede resquicio alguno de infección. Generalmente habrá que recurrir a técnicas de autoplastia.

- d) Recidiva. Generalmente es secundaria a una infección previa, sobre todo cuando se precisa retirar el material. También puede aparecer cuando la colocación del bio material ha sido incorrecto, debido que su anclaje no se ha efectuado en el lugar preciso (distancia suficiente del anillo herniario). Para su tratamiento habrá que colocar nuevamente una bioprótesis como refuerzo de la plastia realizada previamente. Los resultados obtenidos tras el empleo de los materiales protésicos han conseguido que se disminuya de forma drástica la recidiva herniaria en general, sin perder de vista que algunas de las complicaciones, como infección por ejemplo, pueden complicar gravemente algunos implantes.

## 1.6. BIOMATERIALES.

Los biomateriales se pueden clasificar según su comportamiento al ser implantados o bien atendiendo a su naturaleza química<sup>109, 113</sup>. Aún teniendo en cuenta que en el diseño de una prótesis se pueden combinar uno o más elementos, según la naturaleza química del material se pueden dividir en materiales de origen sintético o materiales de origen biológico.

### 1.6.1 Tipos de biomateriales

- a) Materiales de origen sintético.

Dentro de este tipo de biomateriales vamos a tener: metales, cerámicas y polímeros.

1. **Metales.** Desde hace décadas, el uso de implantes metálicos para corregir los daños producidos en el cráneo o para la fijación interna de fracturas se justificaba inicialmente por el hecho de que la inclusión de elementos metálicos en el cuerpo de los soldados heridos se toleraba bastante bien.

Los metales se han utilizado principalmente para la fabricación de prótesis para reemplazar partes del cuerpo (articulaciones, placas de cráneo, clavos,



etc.), o implantes utilizados para estabilizar y ayudar al normal proceso de reparación de un tejido (por ejemplo, en la unión de huesos fracturados). Se han utilizado diferentes clases de aceros inoxidable es y de aleaciones tales como CO-CR, CO-Cr-Mo, Co-Cr-Ni, o aleaciones a base de titanio, aluminio y vanadio<sup>114</sup>. Hoy día existe una gran diversidad de composiciones químicas para el acero inoxidable que se utilizan en medicina<sup>115</sup>, de tal forma que mejoran la corrosión del material y mejoran su resistencia. La resistencia a la corrosión es, probablemente, el primer requerimiento que ha de cumplir un implante de esta naturaleza.

La corrosión también puede afectar directamente al tejido circundante por alterar de forma directa el entorno químico debido a cambios electroquímicos que liberan iones metálicos que pueden afectar el metabolismo celular, induciendo reacción inflamatoria crónica liberando los productos obtenidos de la corrosión. Además, aunque es poco frecuente, se puede producir la fractura del implante metálico, el cual podría provocar daños severos. Una de las causas que pueden acarrear la fractura del implante es la “fatiga”, la cual no es más que un exceso de carga sobre el implante debido al movimiento. De esta forma, el fallo comienza con una pequeña rotura de la superficie que irá avanzando a través del material hasta que acabe seleccionándolo.

Normalmente, la respuesta del tejido se va a caracterizar por una cápsula fibrosa que se genera en torno al implante y cuyo espesor va a depender de la intensidad del daño tisular provocado. A su vez, la reacción tisular frente al implante va ser directamente proporcional a la concentración del metal en el tejido. Hay que tener en cuenta también que la vascularización, como proceso de reparación tisular, se puede ver modificada por la presencia del implante, ya que al no ser un material poroso los capilares no pueden penetrar en él.

Las aplicaciones de los metales como que materiales son muy variadas, ya sea para la fabricación en cardiología de *stents* vasculares y marcapulsos

como para odontología o ortopedia, como son los clavos de titanio para los implantes dentales o prótesis de rodilla o cadera.

2. **Cerámicas.** El uso de este tipo de material es muy antiguo, utilizándose de forma variada a lo largo de la historia ya que son clínicamente aceptables. Se suponía condenados a la extinción, pensándose en su progresivo reemplazo por nuevos biomateriales más eficaces. Sin embargo, se observó su potencial empleo en el diseño de implantes óseos y como sistemas transportadores, adquiriendo un nuevo papel en alza<sup>116, 117</sup>. El motivo por el que las cerámicas resultan atractivas al ser utilizadas como biomateriales, aún siendo mecánicamente débiles, radica en que son generalmente materiales químicamente inertes que no suelen desencadenar respuestas en el tejido no deseadas y que no son susceptibles de ataques microbianos.

Desde la perspectiva de los biomateriales, las cerámicas engloban un grupo de compuestos inorgánicos de composición variada que son estables químicamente frente al oxígeno, los medios ácidos, alcalinos y salinos, y los disolventes orgánicos. Son muy resistentes al desgaste y generalmente se comportan como buenos aislantes térmicos y eléctricos. Todas estas propiedades son ventajosas para el desarrollo de prótesis óseas. Bajo este calificativo se incluye a la alúmina (óxido de aluminio), la hidroxiapatita (fosfatos cálcicos, como por ejemplo  $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), diferentes formas de carbono y los denominados biovidrios (cuya composición se basa en  $\text{SiO}_2 - \text{CaO} - \text{Na}_2\text{O} - \text{P}_2\text{O}_5$  y algunos que contienen  $\text{MgO}$  y  $\text{K}_2\text{O}$ ).

Las cerámicas pueden ser divididas en varios grupos. Dentro del primer grupo se encuentran los **carbones**, los cuales son cerámicas densas inertes que forman parte de los implantes vasculares; su variedad probablemente más utilizada es el grafito. Los carbones presentan módulos de elasticidad similares a los del hueso, mostrando buena compatibilidad con materiales hidrocarbonatos como el tejido óseo. A diferencia de la mayoría de los polímeros sintéticos y de los metales, presentan como ventaja que no experimentan fatiga.

En un segundo grupo se sitúan las **cerámicas cristalinas bioinertes**, como la alúmina, de elevada densidad y gran pureza. Son compuestos muy utilizados en implantes dentales debido a sus características de gran resistencia a la corrosión, buena compatibilidad y resistencia mecánica.

El tercer grupo lo forman los materiales clasificados como **cerámicas porosas**, que posibilitan el crecimiento del tejido circundante y la adhesión celular al interior gracias a sus poros. Entre los materiales que constituyen este grupo, probablemente los más representativos son los corales; también la alúmina puede incluirse entre los materiales de este grupo, pero debe ser tratada para adquirir la porosidad característica de estos compuestos. Gracias a los poros permite la vascularización del implante yendo como modelo excelente para procesos de clasificación. El mayor problema de estas cerámicas es la debilidad mecánica que presenta, la cual es proporcional índice de porosidad.

En un cuarto grupo se encuentran las **cerámicas de superficie reactiva o bioactivas** (hidroxiapatita y vidrios bioactivos), cuyo uso se potencia por mostrar una determinada reactividad química del implante frente a los tejidos circundantes<sup>118</sup>. La ventaja que presentan este tipo de biomateriales es que se pueden reabsorber a largo plazo desapareciendo los potenciales problemas de biocompatibilidad. Las cerámicas de este grupo se utilizan frecuentemente para fabricar implantes que induzcan y posibiliten la formación de estructuras óseas, con fines ortopédicos. El principal inconveniente que presentan es que los iones liberados durante el proceso de reabsorción han de encontrarse a una concentración compatible con el medio fisiológico que lo rodea y, a la vez, no resultar tóxicos<sup>119</sup>. Como quinto y último grupo tenemos **las mezclas o composites**, lo cuales presentan como característica principal la de estar compuestos por dos fases en los que se consigue una suma de las propiedades de cada una de las fases por separado. Como ejemplos de ellos tenemos las mezclas colágeno-hidroxiapatita y las de biovidrio-polietileno de alta densidad.

3. **Polímeros.** La introducción de los polímeros sintéticos en el campo de los biomateriales se debe a la observación de los pilotos de guerra, los cuales no sufrían alteraciones oculares cuando se les incrustaban pastillas procedentes de las ventanas, las cuales estaban fabricadas con polimetilmetacrilato. A partir de entonces se generaron lentes intraoculares hechos de este material. También se utilizó en odontología y en cirugía ortopédica, fabricándose cemento para fijación de prótesis<sup>120</sup>. Más adelante se incorporaron otros polímeros, tales como el acetato de celulosa, componente esencial para los tubos de diálisis desde 1940; el dacron para injertos vasculares, y el polieturetano empleado en prótesis cardíacas.

Las propiedades físicas y la estabilidad química que presentan este grupo de biomateriales va depender de un conjunto de variables como son la composición química del polímero y el grado de entrecruzamiento. Como ventaja, se les puede dotar de una variedad amplia de propiedades añadiendo aditivos químicos, macromoléculas o segundas fases. La utilización va ser determinada por la forma, la estructura, la textura, la rigidez y la flexibilidad. Existe, por tanto, una gran variedad de polímeros que se pueden utilizar como biomateriales. En esta variedad se pueden establecer dos grandes grupos: los **elastómeros** y los **plásticos**.

Los elastómeros se pueden someter a grandes deformaciones, pudiendo volver adquirir sus dimensiones y formas originales. Los plásticos, que se introdujeron en el mundo de la cirugía en los años 50, son materiales con una estructura más rígida y se pueden subdividir en función del comportamiento térmico que presentan. De esta forma, los termo plásticos se pueden someter a tratamiento térmico, y una vez fundidos es posible darles una forma adecuada para su aplicación final.

Los **hidrogeles**, los cuales toman su nombre gracias a la afinidad que presentan por el agua y la incorporación de la misma a su estructura, se encuentra dentro de los polímeros sintéticos y que pueden ser tanto elastómeros como plásticos. Los hidrogel es tiene una composición muy variada, utilizándose polímeros naturales, como por ejemplo polímeros

aniónicos (ácido hialurónico, condroitín sulfato y ácido algínico), polímeros catiónicos (polilisina y quitosán), polímeros anfipáticos (colágeno, fibrina) o polímeros neutros (dextrano), así como una gran número de polímeros sintéticos o mezclas de los mismos<sup>121, 122</sup>.

La estabilidad química de los polímeros viene determinada por la fuerza de los enlaces químicos y de la mayor o menor accesibilidad a la superficie; factores estéricos son capaces de ocultar enlaces químicos protegiéndolos del entorno y, por consiguiente, de la degradación del mismo. Este deterioro o envejecimiento de los polímeros se atribuye al hecho de que la mayor parte no se va a encontrar en equilibrio termodinámico, de tal manera que presentan tendencia a variar su tamaño molecular durante el envejecimiento.

El mecanismo por el que se genera el proceso de degradación de los polímeros implica la participación de diferentes tipos de reacciones químicas: hidrólisis de poliamidas y poliésteres, oxidación-reducción, descarboxilación y reducción de dobles enlaces, y aquellas que implican la participación de radicales libres. Este conjunto de reacciones, sumado a los procesos catalizados enzimáticamente, pueden degradar el polímero mediante un mecanismo de rotura al azar o por despolimerización de las cadenas que lo constituyen. El proceso de biodegradación conlleva la hidrólisis del polímero, la actividad fagocítica de macrófagos y la actividad lítica de células gigantes de respuesta a cuerpo extraño.

Para evaluar la respuesta del tejido respecto al implante y el tipo de interfase creada se precisa de la caracterización de los diferentes parámetros tanto físicos como químicos del polímero. Como propiedades de interés general tenemos la hidrofobicidad y la carga iónica que va a presentar la superficie del implante; propiedades las cuales se pueden ver modificadas debido a la formación de copolímeros o por la variación de la composición de estos.

Otro de los parámetros que influyen sobre la respuesta del tejido respecto al implante es el tamaño molecular. En general, a menor masa molecular de un polímero, menor toxicidad para los tejidos.

La principal causa que genera toxicidad en este tipo de implantes es la presencia de monómero libre. Esto se puede deber a una polimerización incompleta, degradación del polímero o polimerización “in situ”.

Las aplicaciones biomédicas de los polímeros se pueden clasificar atendiendo a la función que desempeña el polímero en cuestión<sup>123</sup>.

Como ejemplo de aplicación biomédica de los polímeros tenemos las suturas y también las prótesis utilizadas para la reparación de hernias, preparados bajo la forma de mallas multifilamento.

Además, los polímeros son materiales ideales para el transporte de otras sustancias como pueden ser fármacos, por ejemplo, ya que son capaces de incorporarlos y liberarlos lentamente. Se pueden elaborar, por tanto, dispositivos que incorporan fármacos en una matriz de naturaleza bioabsorbible, liberándolo posteriormente conforme se va degradando el polímero que la contiene.

Como características principales de un “polímero transportador” podemos señalar: 1) ser soluble, fácil de sintetizar y con una masa molecular precisa, 2) ha de contener lugares de unión y liberación del fármaco, o la posibilidad de incorporar residuos de unión, 3) ser compatible con el entorno biológico, no tóxico, no antigénico y no alterar propiedades de dicho entorno, 4) el polímero, por sus propiedades físico-químicas intrínsecas o por la incorporación de residuos específicos, debe ser reconocido o dirigirse a un tipo predeterminado de células y, 5) debe ser biodegradable o poder ser eliminado por el organismo una vez finalizada su función.

La mayoría de los polímeros utilizados en medicina serán poliésteres, entre los cuales destacamos el ácido poliláctico y sus derivados poliméricos, el ácido poliglicólico, la poli-caprolactona, la polidioxanona y la poliglactina 910:

- **Ácido poliláctico (PLA):** El ácido poliláctico, PLA, es un polímero termoplástico, amorfo o semicristalino, que ha sido ampliamente

estudiado en aplicaciones como la liberación controlada de fármacos, suturas biodegradables y diferentes implantes para la fijación de fracturas y para la elaboración de dispositivos vasculares. Ya que el ácido poliláctico es una molécula quiral, existe en dos formas estereoisómeras que dan lugar a cuatro polímeros morfológicamente diferentes: dos polímeros estereorregulares, D-PLA y L-PLA, la forma racémica D,L-PLA y una cuarta forma morfológica, meso-PLA, que puede obtenerse a partir de la D,L-lactona, pero se usa muy poco en la práctica. Tanto el ácido láctico D como el L son física y químicamente idénticos en todos los aspectos excepto en que cada uno rota en dirección opuesta, D, dextrorrotación a la derecha y L, levorrotación a la izquierda.

Propiedades: Los polímeros pueden ser semicristalinos o amorfos. En los polímeros semicristalinos las cadenas se doblan formando regiones ordenadas más densas llamadas dominios cristalinos, lo cual actúa como una especie de enlaces cruzados que confieren al polímero una resistencia a la tracción mayor y una mayor elasticidad ya que le proporciona una mayor rigidez en comparación con el polímero amorfo.

Los polímeros derivados de los monómeros D y L del ácido poliláctico serán materiales semicristalinos, a diferencia del D,L-PLA que es siempre amorfo. Las diferencias en cristalinidad de D,L-PLA y L-PLA tienen importantes implicaciones tanto en las propiedades mecánicas como en el tiempo de degradación del polímero. Tanto las zonas amorfas del D y el L-PLA como el D,L-PLA presentan una “temperatura de transición vítrea” por debajo de la cual el polímero se comportará más como un sólido vítreo y por encima de la cual el polímero tiene un comportamiento de tipo gomoso. Un polímero con dicha temperatura cercana a la temperatura corporal, será más dúctil al ser implantado que a la temperatura ambiente, por lo que esta temperatura es un parámetro que influye en el comportamiento final que presente el material. Por otro lado tendremos la influencia del peso molecular, el cual especialmente en el caso del PLA, puede variar considerablemente con algunos métodos de procesado y esterilización<sup>124</sup>. Todas estas propiedades pueden afectar

tanto las propiedades mecánicas del material como el tiempo de degradación del implante. El PLA puede ser tan duro como el acrílico o tan blando como el polietileno, rígido como el poliestireno o flexible como un elastómero.

Procesado: Para el procesamiento de los polímeros degradables en general se emplean técnicas similares a las utilizadas para los termoplásticos, es decir, las piezas poliméricas se pueden obtener por extrusión, inyección, moldeadas por compresión o por disolución en un solvente y colada. La complicación principal durante el procesamiento es la pérdida de peso molecular sufrida por el polímero debido a la sensibilidad hidrolítica y térmica de los enlaces del polímero, lo que puede llevar a pérdidas importantes del peso molecular durante el conformado del material. Por tanto, la técnica de procesamiento también influirá en las propiedades mecánicas finales de la pieza obtenida.

Las técnicas de esterilización también influyen con respecto a las propiedades finales del material. El PLA no debe ser esterilizado mediante el uso del autoclave ya que el vapor de agua desprendido durante el proceso degradará el material, debiéndose utilizar como técnicas de esterilización la radiación gamma, óxido de etileno, o la irradiación con un haz de electrones<sup>125</sup>; con la salvedad de que la radiación gamma y el óxido de etileno han de ser usadas con precaución. El primero de ellos porque pueden alterar su peso molecular y esto influirá notablemente tanto en las propiedades mecánicas como en el tiempo de degradación<sup>126</sup>. El óxido de etileno es altamente tóxico, por lo que hay que airear los dispositivos en vacío un largo período de tiempo antes de ser empaquetados<sup>127</sup> para asegurar que todo el gas sea eliminado. Como última salvedad, al esterilizarse hay que tener en cuenta la humedad y la temperatura, ya que una temperatura de esterilización mayor que la de transición vítrea generaría cambios en la geometría de la pieza.



Solubilidad: Estos biopolímeros son solubles en gran número de solventes orgánicos e insolubles en soluciones acuosas. En un medio acuoso tienen la capacidad de absorber agua e hincharse, lo cual es una de las propiedades características, según el peso molecular y la composición monomérica.

Al añadir un solvente a los biopolímeros, vamos a aumentar considerablemente la viscosidad, lo cual está en relación directa con su peso molecular y el cual está definido por el grado de polimerización.

Degradación: La degradación será por hidrólisis no enzimática. Estudios específicos realizados para observar la degradación de microesferas elaboradas con PLA y PGA mostraron que las microesferas de PGA 50:50 de bajo peso molecular, el más hidrofílico, se degradaban *in vitro* aproximadamente en un mes, mientras que las microesferas elaboradas con el polímero más hidrofóbico, D,L-PLA de gran peso molecular, requerían 12 a 16 meses para su hidrólisis completa<sup>128</sup>.

Como aplicaciones del PLA en medicina, se utiliza hoy día en situaciones que no requieran altas prestaciones mecánicas. Sin embargo, en la actualidad existen numerosos estudios dirigidos al desarrollo de polímeros con mayor resistencia y rigidez que puedan ser usados como placas de osteosíntesis, para esto se están estudiando materiales compuestos con matriz polimérica reforzados con fibras o partículas generalmente cerámicas o vítreas y en algunos casos, reforzados con fibras del mismo polímero<sup>129</sup>. En los últimos años se han utilizado en el campo de la Ingeniería de Tejidos, la cual se basa en generar tejidos a partir de células del mismo paciente cuyo crecimiento es guiado *in situ* mediante andamios reabsorbibles. Este tipo de terapia ha sido estudiada para la regeneración de diferentes tejidos como lo son el tejido cutáneo, hepático, cardiovascular y más recientemente, el cartilaginoso y el tejido óseo. Actualmente existen en el mercado productos basados en ingeniería de tejidos para la reparación de tejido cutáneo. Otros tejidos como el óseo y el cartílago precisan aún más estudios.

El criterio de selección del tipo de PLA dependerá entonces de la aplicación. Así tenemos que, para aplicaciones que requieran mayores prestaciones mecánicas o una degradación del material a largo plazo, la forma semicristalina del PLA (L-PLA) será la indicada. En cambio, si lo que buscamos es una reabsorción en menor tiempo, la forma amorfa del polímero (DL-PLA) será la indicada; perdiendo, eso sí, propiedades mecánicas. También se pueden utilizar los copolímeros de L/DL-PLA para graduar tanto las propiedades mecánicas como la velocidad de degradación<sup>130</sup>.

Este tipo de material va a permitir el poder agregarle diferentes sustancias, como por ejemplo antimicrobianos, mediante distintos métodos:

1- *Inmersión*. Es uno de los métodos habituales para incorporar antimicrobianos en la superficie de los objetos médicos. Sin embargo, los biomateriales tienen escasa afinidad por los fármacos ensayados, y éstos quedan adsorbidos superficialmente y no penetran en la matriz polimérica.

2- *Recubrimiento*. Un material polimérico puede ser dotado de una amplia gama de recubrimientos para proteger el implante contra las infecciones. Así, la incorporación superficial de antimicrobianos mejora considerablemente si el objeto a recubrir es previamente tratado con sustancias, denominadas “tie”, que tienen capacidad para unirse tanto al polímero base como al fármaco.

Como ejemplo tenemos el uso del cloruro de tridodecilamonio (TDMAC), surfactante catiónico. La estrategia consiste en incorporar el compuesto “tie” disuelto en un solvente orgánico que facilita que las largas cadenas del surfactante queden atrapadas en la superficie del biomaterial ligeramente hinchada, quedando así la carga positiva hacia el exterior. Posteriormente y una vez seco, el implante es sumergido en una solución acuosa de un antibiótico aniónico, que es retenido

electrostáticamente por las cargas positivas que parten de la superficie del biomaterial.

3- *Carga en el polímero*: La ventaja de los métodos de inversión y recubrimiento es su simplicidad, pero por contra tienen como inconveniente que la cantidad de fármaco incorporada al biomaterial es muy reducida. La liberación del fármaco al medio será muy rápida, por lo que puede ser insuficiente en caso de querer un efecto antibacteriano prolongado. Con este método conseguimos incorporar la sustancia deseada (en este caso un fármaco) en el interior del objeto, y como resultado la cantidad de droga será mucho mayor pudiendo tener efectos a largo plazo. La carga del fármaco en la matriz polimérica puede realizarse durante la síntesis del polímero o bien durante la manufactura del implante.

4- *Conjugados fármaco-polímero*: Este método es menos utilizado respecto a los dos anteriores. Se trata de una unión covalente entre el fármaco y el monómero antes de la polimerización y fabricación del implante. En estos sistemas, la difusión no es el principal mecanismo responsable de la liberación del fármaco en la estructura polimérica hidrófila, sino que ésta se produce cuando, al contacto con fluidos internos, se hidroliza el enlace covalente que unía fármaco y polímero; consiguiendo así alargar el efecto de la sustancia agregada al polímero durante varias semanas.

- **Ácido poliglicólico (PGA) o poliglicolida**: Es el poliéster alifático lineal más simple. Se utilizó para desarrollar la primera sutura sintética 100 % absorbible y se comercializó como Dexon® en los años 60 por Davis & Geck, Inc (Danbury, CT).

Gracias a un proceso de dimerización del ácido glicólico se sintetiza el ácido monómero el cual, por polimerización de apertura del anillo, genera un material de alto peso molecular y con un porcentaje de 1-3% de monómero residual.

Su característica principal es su elevada cristalinidad (45-55%) que le permite alcanzar una temperatura de fusión de 230° C<sup>131</sup>. No es soluble en la mayoría de solventes orgánicos, exceptuando organofluorados como el hexafluoroisopropanol.

Las fibras que se obtienen como resultado a partir de PGA tienen una elevada resistencia. Su rigidez dificulta su uso para suturas, excepto cuando se emplea como material trenzado. Las suturas de PGA pierden alrededor del 50% de su fuerza tensil después de dos semanas, el 20 % a las tres semanas y el 100% en un mes. Son completamente absorbidas en 4-6 meses. El poliglicólico ha sido copolimerizado con otros monómeros para reducir la rigidez de sus fibras. La malla compuesta por ácido poliglicólico se comercializa como Safyl®.

- **Copolímeros de ácido poliláctico-ácido poliglicólico:** Los polímeros de ácido poliláctico y poliglicólico se han constituido en diferentes proporciones que muestran distintos tiempos de reabsorción, los cuales oscilan entre dos y treinta y seis meses<sup>131</sup> D, L-láctico y poliglicólico (50:50) 2-3 meses; poliglicólico 3-4 meses; D, L-láctico y poliglicólico (85:15) 2-4 meses; poli (D, L-láctico) 4-6 meses y poli (L-láctico) 18-36 meses.

Debido a sus propiedades biológicas y mecánicas los polímeros de ácido poliláctico o los copolímeros PLA y PG tienen desde hace varios años aplicaciones terapéuticas muy diversas que dan testimonio de su biocompatibilidad y de sus propiedades reabsorbibles, así como de su ausencia de toxicidad. Entre estas aplicaciones cabe destacar su empleo como material de sutura absorbible, en forma de miniplacas y tornillos para la osteosíntesis, en forma de materiales termoplásticos en cirugía orbitaria, en forma de microesferas que permiten modificar ciertos parámetros cinéticos y la biodistribución de moléculas farmacológicas, como exfoliante en dermatología y en forma de membranas para la regeneración tisular guiada en periodoncia.

- **Poli-caprolactona (PCL):** es un polímero semicristalino, que presenta un punto de fusión de 59-69 °C y una temperatura de transición vítrea de -60 °C. Se comporta además como inmaterial biocompatibles que se puede utilizar como sutura biodegradable. Debido a que la poli-caprolactona tiene un intervalo de degradación elevado, del orden de 24 meses, se han preparado copolímeros con D,L-láctico para aumentar la velocidad de bioabsorción. También se utilizan copolímeros en bloque de PCL-co-PGA (MONOCRYL®), por ofrecer una menor rigidez comparado con el homo polímero de PGA puro.
  
- **Polidioxanona**<sup>189-191 203-5</sup>: conocida como PDS, es una sutura sintética de la ETHICON®. Es un polímero de la polidioxanona con más fuerza tensil y más flexibilidad que el Dexon® y el Vicril®. Monofilamento que se degrada por hidrólisis no enzimática, provoca mínima reacción hística. Conserva un 70% de resistencia tensil a los 14 días, 50% a los 30 días y 25% a los 45 días. Tiene su absorción mínima a los 90 días y esta concluye a los 180 días. Su color es natural o violeta.
  
- **Poliglactina 910**<sup>189, 191-2 203, 205-6</sup>: es un co-polímero sintético del ácido glicólico y ácido láctico (en una proporción 90:10; 92 % de PGA y 8 % de PLLA), muy resistente, con mayor fuerza tensil que el ácido poliglicólico, viene como mono o multifilamento. Ambos ácidos existen en el cuerpo humano, y su degradación es por hidrólisis química. Se comercializa como: Vicryl®, de la firma ETHICON®, que son los productores originales conserva el 60% de la fuerza tensil a los 14 días, el 30% a los 24 y 10 % a los 35 días. Se absorbe fundamentalmente después de los 40 días y concluye a los 90, es monofilamento y de color violáceo. Los preparados oftalmológicos pueden tener color púrpura o sin teñir. Vicryl® recubierto, es la poliglactina 370 con estearato de calcio, de la firma ETHICON®, es inerte y poco antigénico.

FUERZA TENSIL DE ALGUNOS MATERIALES DE SUTURA (KgF/mm <sup>2</sup> )	
Acero monofilamento	162.6 +/- 0.4
Acero multifilamento	113.8 +/- 1.4
Poliéster no recubierto	86.4 +/- 0.7
Poliéster recubierto	90.1 +/- 0.6
Ácido poliglicólico	75.5 +/- 0.4
Polipropileno	67.9 +/- 2.2
Poliamida monofilamento	76.6 +/- 1.7
Poliamida multifilamento	70.9 +/- 0.5
Seda	45.6 +/- 0.3
Algodón	46.0 +/- 1.1
Cat gut	49.5 +/- 0.5

Tabla 2. Fuerza tensil expresada en KgF/mm<sup>2</sup> (tomado de Al Sherbeeny, 2008)

b) Materiales de origen biológico.

Disponemos de un amplio conjunto de productos naturales que pueden ser utilizados como biomateriales; sin embargo, presentan el inconveniente de poder inducir una respuesta inmunológica y consiguiente proceso de rechazo, que se puede minimizar mediante una preparación previa del material. La mayor parte de estos biomateriales se obtienen del tejido conjuntivo que en el organismo forma los tendones, los huesos, la piel, los ligamentos y diversas membranas.

El **colágeno** es el componente mayoritario del tejido conjuntivo y utilizado como biomaterial. Es una proteína que puede formar fibras y otras estructuras como redes<sup>118 138</sup>. El colágeno aporta una variedad de propiedades a los tejidos que lo contienen: fuerza a los tendones; resistencia, elasticidad y flexibilidad a la piel; la matriz de colágeno con cristales de fosfato cálcico constituye un soporte rígido, el hueso; el colágeno con una matriz de proteoglicanos confiere al cartílago sus características propiedades mecánicas. De sus características químicas se pueden resaltar su capacidad para formar enlaces de entrecruzamiento, la degradación por colagenasas, la reabsorción tisular, la semipermeabilidad y la capacidad para interactuar con diversas moléculas.

Como características biológicas presenta antigenicidad reducida (por entrecruzamiento), favorece la adhesión celular, interacciona con plaquetas y produce la activación de los componentes del sistema de coagulación sanguínea<sup>139</sup>.

Con agentes como el glutaraldehído y el formaldehído se pueden regular algunas de las propiedades del colágeno, lo cual a su vez ayuda a controlar su biocompatibilidad.

Existen una gran variedad de aplicaciones del colágeno como biomaterial<sup>140-1</sup>. Se puede utilizar como sustitutivo de la córnea en forma de película o membrana, membranas para hemodiálisis, membranas de oxigenación, piel artificial y reparación de hernias. En forma de esponja se utiliza para la sustitución de huesos y cartílagos, para el tratamiento de lesiones de la piel, como contraceptivos vaginales o en tampones quirúrgicos. En disolución o gel se utiliza como transportador de drogas y de fármacos o como inyectable en cirugía plástica y, en forma de fibras, como material de sutura, componente artificial de vasos sanguíneos, componente de válvulas cardíacas y como agente hemostático.

En cirugía cardíaca tiene una utilización muy relevante, ya que se utiliza para fabricar válvulas biológicas, denominadas también bioprótesis. El otro tipo de válvulas utilizadas son las denominadas mecánicas, las cuales son biocompatibles, con una capacidad funcional elevada, y son duraderas; sin embargo, están sujetas a complicaciones, como la formación de trombos, que se puede evitar con una terapia anticoagulante, inconveniente que presentan las mecánicas. Actualmente se realizan estudios para mejorar y alargar la vida de las bioprótesis, mejorar la calidad del tejido y reducir la calcificación.

En cirugía plástica se utiliza en forma de inyecciones para el tratamiento de las imperfecciones, disimular las arrugas, disimular las cicatrices y las líneas faciales<sup>142</sup>. Generalmente el colágeno se obtiene y purifica de tejidos de origen bovino<sup>143</sup>. Gracias a los diferentes tratamientos, reacciones químicas que producen el entrecruzamiento del colágeno, se consigue disminuir la

antigenicidad del colágeno e incrementar su vida media en el tejido. Tras la implantación del colágeno se puede desarrollar un proceso de rechazo y el colágeno implantado con el tiempo llega a degradarse.

El **quitosán** o **chitosán** es un polisacárido B<sup>107-9,144</sup> copolimérico de D-glucosamina y N-acetilglucosamina que deriva de la quitina; el cual fue descubierto por Rouget en el año 1859 al tratar la quitina con una solución caliente de hidróxido potásico, obteniendo como resultado un producto soluble en ácidos orgánicos. En el campo de los biomateriales, el quitosán, se ha ensayado, entre otras aplicaciones, para membranas de hemodiálisis, en suturas biodegradables, en sustitutos artificiales de la piel, como agente cicatrizante en quemaduras, en sistemas de liberación de fármacos, y para el transporte de agentes anticancerígenos, etc<sup>145</sup>.

El **ácido hialurónico** se utiliza como alternativa al colágeno. Se trata de un polisacárido esencial que forma parte de la matriz extracelular y que podemos encontrar de forma abundante en el cordón umbilical y, articulaciones y en el humor vítreo del ojo<sup>146</sup>. Lo sintetizan mayormente las células mesénquimales y es el único entre la familia de los glicosaminoglicanos que no se encuentra unido de forma covalente a las proteínas, ni contiene azufre; estando formado por unidades repetitivas de ácido D-glucurónico y N-acetilglucosamina.

El ácido hialurónico nativo tiene un alto peso molecular y se une a proteoglicanos, proporcionando la integridad de los tejidos y formando una matriz para la migración celular. También se puede encontrar en zonas de inflamación, angiogénesis y cicatrización en forma preferente de polímeros de menor tamaño<sup>147</sup>.

Para su uso en medicina, el ácido hialurónico se puede obtener a partir de crestas de gallo, aletas de tiburón o producido por la fermentación bacteriana de cepas patógenas para humanos (*Streptococcus equii*, *Streptococcus zooepidemicus*).

El ácido hialurónico no es especie específico, esto es, no va a variar su composición entre especies, por lo que los estudios de hipersensibilidad



efectuados, aparte de su origen, no muestran una reactividad cutánea. Hoy en día es uno de los materiales más utilizados y más seguros para tratamientos de estética, especialmente a nivel facial. Debido a la degradación que sufre por las hialuronidasas, tiene el inconveniente de que su efecto es temporal por lo que precisa inoculaciones repetidas para mantener el efecto estético deseado.

Como reacciones adversas a nivel cutáneo puede producir molestias, enrojecimiento inflamación de la zona inoculada, que se autolimitan o desaparecen después de un tratamiento antiinflamatorio<sup>148</sup>. Habría que distinguir las reacciones inflamatorias inmediatas que se producen como consecuencia de la agresión física de la inoculación de aquellas tardías en que podría intervenir una respuesta inmunitaria específica. Las reacciones producidas horas después de la inoculación del ácido hialurónico, pueden ser debidas a una respuesta específica en la que se activa la respuesta innata, igual que ocurre en otros traumatismos o lesiones espontáneas de la piel.

La frecuencia con la que se producen este tipo de reacciones pueden estar relacionadas con la técnica de inyección, con la profundidad y con la rapidez en la inoculación<sup>149</sup> y no son atribuibles en principio al material que se inyecta. La resolución de este tipo de acciones puede ser tanto espontánea como con tratamiento esteroideo local<sup>150, 151</sup>. De forma excepcional se ha llegado a producir necrosis en zonas especialmente sensibles, siendo atribuido a un efecto de compresión vascular que impide la correcta irrigación de la zona o al uso de el cual puede producir un espasmo vascular. De igual manera, la formación de equimosis se puede producir tras la perforación de algún vaso sanguíneo subcutáneo o embolias tras la inoculación directa del producto en el interior de los vasos.

También se puede encontrar en la literatura el desarrollo tardío de una reacción inflamatoria con formación de granulomas con características histológicas de reacción a cuerpo extraño. La formación de granulomas se desencadena como respuesta a antígenos persistentes, sustancias irritantes y en general a compuestos poco solubles. El origen de los granulomas no tiene, generalmente, su génesis en una respuesta inmunológica si no que aparecen alrededor de

materiales insolubles o de cuerpos extraños que son difíciles de digerir. En muchos casos se ha podido comprobar la existencia de infección asociada en los granulomas formados<sup>152-3</sup>; cuyo origen es generalmente por bacterias oportunistas difíciles de identificar. No se han descrito relación causa-efecto entre la administración de un bioimplante cutáneo y el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

El **alginato** es un polisacárido que se utiliza igualmente como biomaterial y que tenido un gran auge en la última década. Será tratado en el siguiente tema junto con los factores de crecimiento, ya que son la base utilizada para el estudio realizado de esta tesis.

#### 1.7 EL ALGINATO COMO BIOMATERIAL.

El **alginato** es un polisacárido que procede de algunas algas marrones que son algas de gran tamaño entre las que podemos encontrar básicamente las siguientes:

*Laminaria hyperborea*, que prolifera en Noruega donde se recoge en aguas poco profundas, pero también existe en el Cantábrico aunque esta es la *Laminaria digitata*, mientras que la *Laminaria japonica*, se cultiva en China y Japón y la *Macrocystis pyrifera* en aguas del pacífico y también encontramos otras especies de los géneros *Lessonia*, *Ecklonia*, *Durvillaea* y *Ascophyllum*. Estas algas contienen entre el 20 y el 30% de alginato sobre su peso seco.

El alginato se extrajo por primera vez de estas algas marrones a través de tratamiento en medio alcalino y se estudió por primera vez a finales del siglo XIX, por el químico E.C. Stanford, que lo denominó “algin”. Los Estados Unidos fueron los pioneros en la producción comercial de alginato en la década de 1920, por la empresa “Kelco”. Vemos un uso muy extendido del alginato en la industria alimentario desde mediados del siglo pasado.



Ilustración 28. *Macrocystis Pyrifera*

Tomado de: [https://lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=macrocystis&lang=2](https://lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=macrocystis&lang=2)

### 1.7.1 Estructura y propiedades del alginato

El alginato se forma a través de dos tipos de monosacáridos, ambos con un grupo ácido, que son el ácido gulurónico y el ácido manurónico. No fue hasta 1955 cuando se descubrió la presencia del ácido gulurónico en el alginato. Antes se creía que estaba compuesto exclusivamente por ácido manurónico.

Hay una gran diferencia entre los dos tipos de monosacáridos, ya que las conformaciones espaciales son diferentes lo que produce una gran diferencia estructural entre los bloques poliédricos, aunque los ácidos algínicos son copolímeros lineales de ambos ácidos por formación de enlaces glucosídicos<sup>154-7</sup>, no todos son idénticos. Los encontramos tanto en bloques de homopolímeros de G (ácido gulurónico) como de M (ácido manurónico) como de heteropolímeros secuenciales alternados (G-M). La distribución de estos bloques determina las propiedades individuales del compuesto obtenido. En la figura de abajo vemos reflejados los diferentes tipos de alginato.

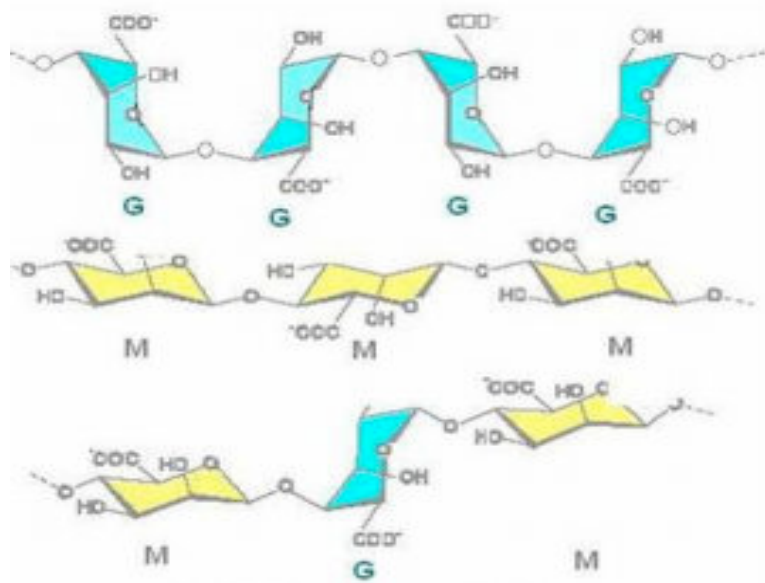


Ilustración 29. Tipos diferentes de alginato según su estructura química Tomado de: [http://www.etsib.upc.edu/docs/activitats\\_difusi/biotecnologia\\_-\\_dossier.pdf](http://www.etsib.upc.edu/docs/activitats_difusi/biotecnologia_-_dossier.pdf)

Las algas sintetizan el alginato inicialmente como un polímero de ácido manurónico, que posteriormente modifican transformando unidades de manurónico en gulurónico mediante una epimerización enzimática. El producto final contiene zonas formadas por gulurónico, zonas formadas por manurónico y zonas con gulurónico y manurónico alternados. Las zonas de ácido manurónico son casi planas, con una estructura semejante a una cinta, mientras que las de ácido gulurónico presentan una estructura con entrantes y salientes.

	GGGG....	GMGM...	MMMM...
<i>Macrocystis pirifera</i>	16 %	36 %	48 %
<i>Laminaria hyperborea</i>	57 %	38 %	17 %

Ilustración 30. Proporción bloques de polisacáridos según algas

Tomado de: <http://www.scielo.org.ve/pdf/rlmm/v35n2/art05.pdf>

El contenido relativo de cada uno de estos bloques de depende del tipo de alga y, en menor medida, de las condiciones de su crecimiento. Mientras que el bloque formado por gulurónico y manurónico alternos representa siempre alrededor de 1/3, el de poligulurónico y polimanurónico cambia mucho, pudiendo considerarse como casos

extremos. El grado de desarrollo del alga es también una característica de la que depende la composición del alginato. Las algas maduras tienen mayor contenido de alginato, y con mayor viscosidad y capacidad gelificante, que las algas más jóvenes. El peso molecular puede alcanzar los 10000, todo esto dependiendo del tipo de alga, siendo los más largos los de *Laminaria japonica*. A veces se hidroliza también para su comercialización a distintos tamaños, dependiendo de la aplicación a la que se destine. Durante el almacenamiento de las algas secas antes de su procesado, o incluso del producto en polvo, el alginato se degrada con facilidad en presencia de oxígeno, disminuyendo su viscosidad. La forma ácida es la menos estable, y la sal sódica la más estable. En disolución, es estable entre pH 5,5 y pH 10.

Una de las características esenciales de los alginatos y del ácido algínico, ya que reacciona con cationes polivalentes (como el calcio), es la conformación estructural. Esta estructura es conocida como “caja de huevo”.

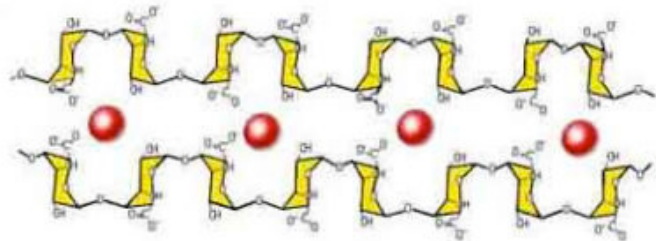


Ilustración 31. Estructura en "caja de huevos"

Tomado de: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/alginato.html>

Esto permite la unión de dos cadenas de polímero, con lo que se consigue aumentar mucho el peso molecular y el volumen de las moléculas, aumentando por consiguiente la viscosidad. Dentro del polímero existen las tres clases de bloques (M.M, G.G y M.G), teniendo estos últimos alternancia uniforme, todas las uniones son 1-4 siendo las del ácido manurónico de configuración b y las del gulurónico de configuración a, la reactividad con el calcio para la formación de geles es una función directa de la longitud promedio de los bloques (G), los alginatos que poseen grandes fracciones (G-G) presentan una fuerte capacidad gelificante. Las principales propiedades de los alginatos son la viscosidad y la capacidad gelificante.

Por lo tanto, la viscosidad de las soluciones de alginatos depende de la longitud de las moléculas: cuanto mayor sea la longitud de las cadenas más alta será la viscosidad para una misma concentración. Al disolverse en agua las moléculas se hidratan y aumenta su viscosidad. Las moléculas disueltas no son completamente flexibles, la rotación a lo largo de los enlaces glucosídicos en los bloques G se ve impedida dando lugar a un endurecimiento de la cadena. Estas soluciones son altamente viscosas.

Los alginatos poseen distintas proporciones de monómeros gulurónicos y manurónicos distribuidos de diferentes formas; la principal propiedad que depende de esta distribución es la capacidad de formar geles con cationes polivalentes con los cuales reacciona en forma cruzada como con el calcio. Para que esto se realice, los alginatos deben poseer una cantidad suficiente del monómero gulurónico y una cierta proporción de los mismos deben estar en bloque. Se pueden producir uniones intermoleculares mediante el calcio (u otros cationes multivalentes). Que van a dar lugar a la gelificación de la solución. Un gel de alginato no puede definirse como un sólido o una solución de forma categórica presentando un estado intermedio donde los puntos de unión intermolecular representan el estado sólido.

Después de la gelificación, las moléculas de agua están atrapadas en la matriz del alginato, pero todavía tienen la posibilidad de migrar. Esto es de gran importancia en muchas aplicaciones (por ejemplo: geles de alginatos para encapsular o inmovilizar células). La capacidad del gel para retener agua se debe a fuerzas capilares, los alginatos forman geles térmicamente estables y su resistencia es generalmente independiente de la longitud de la cadena, en la medida que la cadena supere una cierta longitud crítica (el grado de polimerización debería exceder 200 para lograr una resistencia óptima del gel).

Desde un punto de vista químico, la formación de un gel cálcico es un intercambio iónico. El sodio (u otro catión de alginato soluble en agua) es intercambiado por el calcio. Es posible formar un gel de alginato sin involucrar el calcio o el entrecruzamiento por otro catión. Haciendo una solución ácida de alginato se formará un gel de alginato, esto ocurre cuando el polianión del alginato pierde su carga a bajos pH a medida que los grupos carboxílicos de los ácidos urónicos aceptan protones, dando

lugar a que las cadenas de alginatos se aproximen más, lo que favorece la formación de enlaces de estructuras G.

Nuevamente aquí son las estructuras G, las que contribuyen a la resistencia del gel desarrollando enlaces que “endurecen” las estructuras G alineándolas y fijándolas unas a otras mediante enlaces hidrógeno.

La importancia de los alginatos viene dada por su capacidad para formar hidrocoloides, es decir la capacidad de hidratarse en agua caliente o fría dando lugar a soluciones viscosas, dispersiones o geles. Los alginatos son, de esta manera, modificadores de comportamiento de una masa de agua y por tanto útil como espesantes, estabilizante, gelificantes y formadoras de películas. El resultado es un elevado número de aplicaciones en la industria química, farmacéutica y alimentaria.

Las propiedades físicas de los alginatos dependen de las cantidades relativas de bloques G, M y MG que contienen. Por ejemplo, la formación de geles con  $\text{Ca}^{2+}$  depende de la proporción de bloques G; a mayor proporción de éstos, mayor es la consistencia del gel. Los geles de alginato con calcio son irreversibles térmicamente, por lo que se utilizan mucho en materiales que van a ser calentados posteriormente, para su conservación o procesado posterior.

Factores físicos: La solubilización de los compuestos de alginato se ve afectada tanto por el tamaño como por la forma de las partículas. Usualmente se prefiere un material basto o grosero cuyas partículas resultan más fáciles de dispersar y suspender, aunque tienen una baja velocidad de hidratación. Las partículas finas se disolverán más rápidamente, pero existe mayor riesgo de que se aglomeren; éste efecto puede disminuirse diluyendo el alginato en presencia de otro polvo, por ejemplo azúcar.

Factores químicos: La solubilización de estos productos en agua resulta dificultosa si se realiza en presencia de compuestos que compiten con las moléculas de alginato por el agua necesaria para su hidratación. Así, la presencia de azúcares, almidón o proteínas en el agua reducirá la proporción de hidratación y se requerirán mayores tiempos de mezcla. Las sales de cationes monovalentes (como el NaCl) tienen un efecto similar a concentraciones

cercanas al 0.5%. Lo mejor es agregar todas estas sustancias después de que el alginato haya sido hidratado y disuelto.

### 1.7.2 Utilidades en el campo de la bioingeniería

Los alginatos son polímeros que se utilizan con mayor versatilidad para uso industrial. A continuación expondremos un cuadro en el que se exponen algunas utilidades o aplicaciones del alginato.

APLICACIONES ALIMENTICIAS	
<b>Espesante, estabilizante o propiedades de suspensión en:</b>	Jugos de fruta Salsas Cremas Cerveza
<b>Propiedades gelificantes en:</b>	Alimento para animales Gelatinas Relleno de aceitunas
<b>Propiedades de control en:</b>	Fabricación de quesos Helados Cubiertas de frutas en pastelería
APLICACIONES FARMACÉUTICAS	
<b>Propiedades espesantes en:</b>	Jarabes Emulsiones Lociones Cremas
<b>Características de rápida hidratación en:</b>	Desintegración de tabletas Control de irrigación de drogas
<b>Propiedades gelificantes en:</b>	Polvos de impresión dental
APLICACIONES TEXTILES	
<b>Propiedades espesantes en:</b>	Gomas para impresión Baños de tinta
<b>Propiedades de limpieza en:</b>	Sistemas reactivos de tinta Sistemas de dispersión de tinta
OTRAS APLICACIONES INDUSTRIALES	
<b>Propiedades de formación de película</b>	Industria de papeles calco Sellado de conservas
<b>Interacción con silicatos en:</b>	Electrodos de soldadura
<b>Propiedades espesantes y estabilizantes en:</b>	Barnices para cerámicas Pinturas cremosas

Al ser

Tabla 3. Distintas utilidades del alginato

Tomado de: <http://www.monografias.com/trabajos12/alginato/alginato.shtml>  
 polímeros comestibles y casi que carecen de sabor la industria alimentario hace un amplio uso de los alginatos. Como ejemplos podríamos poner que se usa para la obtención de “piezas de fruta” para su uso en repostería e incluso podríamos hablar también de piezas con forma definida como “aros de cebolla” o “guindas”. También se podría citar las esferas de alginato que se denominan “perlas” y son preparadas a partir de una solución de alginato sódico en el zumo o salsa cuyo sabor queremos incorporar a las perlas.



También se emplean en la fabricación de aceitunas rellenas "de anchoa" o "de pimienta". El relleno consiste en una pasta formada por el componente básico triturado, los saborizantes que procedan, alginato, y un compuesto que aporte calcio para la formación del gel. Después de la solidificación, las aceitunas pueden procesarse térmicamente al ponerlas en conserva, sin que el relleno se licúe y salga al exterior.



Ilustración 32. Ejemplos de utilización del alginato

Tomado de: [http://www.etseib.upc.edu/docs/activitats\\_difusi/biotecnologia\\_-\\_dossier.pdf](http://www.etseib.upc.edu/docs/activitats_difusi/biotecnologia_-_dossier.pdf)

Cerveza	Mantiene y mejora la calidad de la espuma
Cremas en pastelería	Gelificación y espesamiento instantáneos; estabilidad del calor; buena sensación en la boca; gama de diferentes texturas
Jugos de fruta	Estabilizante y emulsionante
Yoghurt	Estabilizante; buen sabor
Papel	Mejora las propiedades de resistencia las grasas; mejora la retención de agua, la capacidad de impresión
Impresión en tejidos	Da la reología deseada para imprimir pastas; es inerte a los colorantes y las fibras; tiene excelentes propiedades de lavado

Ilustración 33. Aplicaciones típicas del alginato

En medicina, tiene múltiples aplicaciones igualmente, entre las que destacamos la fabricación de apósitos para cicatrización de heridas, sobre las cuales actúa absorbiendo fluidos y en la formación de tejido de granulación.

El alginato entra en contacto con la herida, formando un gel hidrofílico que la recubre. Controla la exudación mediante intercambio iónico y, además, parecen ejercer la activación de macrófagos en el lecho del herida, generando señales proinflamatorias características de las heridas en proceso de curación.

En estudios experimentales se ha podido comprobar, mediante estudios *in vitro*, el efecto del alginato de calcio sobre el comportamiento celular (viabilidad, proliferación y migración), comprobando el aumento de la proliferación de fibroblastos las primeras 48 horas<sup>158</sup>.

También se han utilizado como antiácidos unidos a antagonistas H2 para el tratamiento del reflujo gastroesofágico. Producen un gel viscoso al reaccionar con el ácido clorhídrico generando una capa protectora que impide el ascenso del contenido ácido al esófago.

Para interés de nuestro estudio, una de las aplicaciones más importantes es la utilización del alginato como **andamio tisular** o *scaffolds* para la regeneración de tejidos, tanto blandos como duros.

Existe un incremento considerable de lesiones y enfermedades que conducen a la pérdida funcional de tejido blando o duro. Por ejemplo, enfermedades como la osteoporosis desarrollan una pérdida progresiva de tejido óseo confiriéndole a los huesos una alta posibilidad de quebrarse. En este sentido se desarrollan andamios estructurales, denominados *scaffolds* que tienen la doble intención de, por un lado, permitir el desarrollo de tejido en aquellas zonas con gran pérdida de tejido y, conferir resistencia mecánica por otro.

Cohen y cols<sup>159</sup> realizaron un estudio sobre la citotoxicidad del alginato y sus quelantes en células madre mesenquimales porcinas y humanas, mostrando que el alginato era un agente óptimo para la diferenciación celular.

Se ha utilizado el alginato para reparación del disco intervertebral, ya que imita las propiedades mecánicas y las propiedades celulo-adhesivas del núcleo pulposo del disco intervertebral<sup>160</sup>. Como vehículo para transportar e implantar células estromales mesenquimales humanas inmunomoduladores (hMSC) en la reparación de lesión medular, se sirvieron de la microencapsulación en alginato, modulando además la actividad inflamatoria de los macrófagos tanto *in vivo* como *in vitro*<sup>161</sup>; como para el cultivo de varios de tipos de células neuronales, incluyendo astrogliomas, astrocitos, microglía y neuronas<sup>162</sup>.

En patología cardíaca, se han agregado miocitos para la reparación tras infarto de miocardio, siendo el hidrogel de alginato similar a una matriz extracelular temporal, sirviendo como depósito para biomoléculas tales como el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) y el factor de crecimiento de hepatocitos y mejorando la estructura y la función cardíaca, al mejorar la angiogénesis y la proliferación de cardiomiocitos tras la lesión sufrida<sup>163-4</sup>. En cirugía plástica, se han aplicado andamios de alginato para el estudio de la proliferación de tejido adiposo a partir de células madre<sup>165</sup>.

En un estudio publicado en 2011 por Pretenko<sup>166</sup> y cols. se realizó el secado por congelación de la solución de alginato sódico seguido de la activación química del núcleo de polisacárido con divinil sulfona con la posterior unión covalente de gelatina (la cual ayuda a la adhesión celular<sup>167</sup>) a las superficies interiores de las paredes de los poros. Esto permitió obtener los andamios con una alta capacidad de adherencia para las células. Cuando se cultivan dentro de este tipo de andamio, las células mesenquimales del estroma de la médula ósea proliferaron y fueron capaces de diferenciarse en adipogénicas, osteogénicas y células condrogénicas, en respuesta a estímulos de inducción específicos. El gel de alginato ha sido también base para posterior realización de andamios en los que pudiera generarse tejido cartilaginoso a partir de células madre mesenquimales procedentes de placenta<sup>168</sup>.

Gautier y cols.<sup>169</sup> encapsularon hepatocitos en perlas de alginato y estudiaron el tipo de alginato y el diámetro de las esferas para optimizar el transporte de dichas células en el tratamiento de la regeneración en pacientes con insuficiencia hepática.

Rezende y cols.<sup>170</sup> han desarrollado un modelo matemático obtenido experimentalmente que describe el comportamiento mecánico de degradación del material del *scaffold*. El material utilizado es alginato. De otro lado, para el diseño han utilizado algoritmos genéticos para maximizar el módulo elástico.

Los *scaffolds* tienen características únicas de alta porosidad (macro-porosidad), apropiada morfología de superficie (micro-porosidad), gran cantidad de área, tamaño de poro adecuado y alta conectividad de la estructura porosa. Además de estas características, el *scaffold* debe ser biocompatible y biodegradable, como lo es el alginato. Por tanto, el objetivo es encontrar los mejores valores de la cantidad de alginato para su fabricación que maximice el módulo elástico.

El problema de optimización, por consiguiente, se enfoca en determinar las características para la fabricación del scaffold. En especial se deben encontrar los valores óptimos de la composición del alginato y la porosidad inicial, para que, en un tiempo específico, se presente el mayor modulo elástico. Este problema se puede escribir como:

$$\begin{aligned} &\text{maximizar} && E(\phi_0, \alpha, t) \\ &\text{sujeto } \alpha && 1 \% \leq \alpha \leq 8 \% \\ &&& 30 \% \leq \phi_0 \leq 80 \% \end{aligned} \tag{6}$$

Donde, E es el módulo elástico, a es el porcentaje de alginato y  $\phi_0$  la porosidad inicial.

Para conocer la evolución de las propiedades mecánicas en el tiempo, se determinó el cambio de esta en conjunto con la degradación y la porosidad (el cambio en el tiempo se denomina contracción  $C(\phi_0, \alpha, t)$ ). Este paso fue desarrollado mediante experimentación. En este sentido, se halla que la evolución de la porosidad en el tiempo es función de la porosidad inicial  $\phi_0$ , el porcentaje de alginato a, el término de degradación (o contracción  $C(\phi_0, \alpha, t)$ ) y las funciones z y y, dado por la expresión:

$$\phi(\phi_0, \alpha, t) = \phi_0 + \zeta(\phi_0, \alpha) * C(\phi_0, \alpha, t) + \psi(\phi_0, \alpha) * C^2(\phi_0, \alpha, t)$$

De igual manera, se puede dar una expresión para el módulo de elasticidad:

$$E(\phi_0, \alpha, t) = E_0 + k_1(\phi_0, \alpha) * \phi(\phi_0, \alpha, t) + k_2(\phi_0, \alpha) * \phi^2(\phi_0, \alpha, t) + k_3(\phi_0, \alpha) * \phi^3(\phi_0, \alpha, t)$$

Por tanto, el problema de optimización se amplía para que el nivel de degradación (o contracción) y la porosidad final sean mayor que 25 y 80 %, respectivamente.

Como bien se ha dejado reflejado, en lo explicado con anterioridad, una de las utilidades más importantes del alginato es su uso en scaffolds y su uso en regeneración de tejidos duros y blandos mediante estos andamios (scaffolds)<sup>159-173</sup>.

## 1.8 FACTORES DE CRECIMIENTO

La agresión de los tejidos, como ya comentamos anteriormente, tiene como resultado su alteración, respondiendo el organismo con un proceso de reparación<sup>174</sup> del tejido afectado. El proceso se inicia con la aparición de un coágulo sanguíneo que va a rellenar el defecto producido, aportando las proteínas necesarias para generar un tejido fibroso que termina en cicatriz, la cual no respeta ni la arquitectura ni las funciones originales que existían.

En ocasiones, este proceso no con lleva la reparación si no la creación de un tejido similar al original, presentando una arquitectura y una función exactamente igual. En este caso por lo tanto hablaremos de regeneración<sup>174</sup>.

En el coágulo sanguíneo formado en las heridas producidas van existir componentes que desencadenarán uno de estos dos procesos se (reparación o regeneración). Las células sanguíneas quedarán atrapados en la malla producida por la cascada de la cual acción desencadenada. Uno de estos tipos celulares son las plaquetas, que van a presentar dos funciones: el taponamiento de los vasos sanguíneos y la secreción de proteínas que catalizan el proceso de la cicatrización. Dichas proteínas son conocidas como factores de crecimiento, que van a producir señales moleculares que cambiarán el comportamiento de las diferentes células que intervienen en el proceso de la reparación, mediando la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular<sup>175</sup>.

Los factores de crecimiento fueron descubiertos por Knighton en el año 1982.

Tayapongsak<sup>176</sup> fue quien descubrió en cirugía maxilofacial la fibrina autóloga, de forma que utilizaba la misma para vehiculizar el injerto en la cirugía. Para obtenerlo, extraía sangre del paciente y la centrifugaba, depositándose los elementos formes en el fondo del recipiente, formándose así el suero con la fibrina.

Posteriormente Robert Marx<sup>177</sup> aportó otro término a la bibliografía científica: el plasma rico en plaquetas (PRP). Para su obtención adaptó la técnica anterior para la obtención de la fibrina autóloga, en la que se englobaba el mayor número posible de plaquetas pensando en el aporte de las proteínas que existen en su interior.

### 1.8.1 Definición

Los factores de crecimiento son por péptidos que se encuentran en diferentes tipos de células y en la matriz extracelular, teniendo un papel fundamental, como ya hemos comentado, en la estimulación y regulación de la reparación de heridas en los diferentes tejidos del organismo. Dichos factores de crecimiento se alojan en los gránulos beta de las plaquetas.

Los estadios del proceso de reparación se encuentran controlados por una gran variedad de cito quina y factores de crecimiento, que actúan de forma local regulando las funciones celulares más básicas, utilizando mecanismos endocrinos, paracrinosis, autocrinos e intracrinosis. Estos factores influyen en procesos tales como la angiogénesis, quimiotaxis y proliferación celular, además del control de la síntesis y la degradación de proteínas de la matriz extracelular<sup>178</sup>.

Actual uniéndose al receptor extracelular que activará la vía intracelular de transducción de señales<sup>179,180</sup>.

El control temporal de la expresión de los factores de crecimiento es crucial en algunas intervenciones quirúrgicas y en el tratamiento de desórdenes a nivel musculoesquelético, incluyendo defectos cartilaginosos, fracturas óseas y lesiones musculares o tendinosas<sup>181</sup>.

Las plaquetas son elementos anucleares procedentes de los megacariocitos. Al producirse solución de continuidad en los tejidos, el factor plasmático de Von Willebrand se une a la membrana plaquetaria, lo que produce que se una al colágeno expuesto de la pared vascular, uniéndose entre sí. De esta forma forma se produce la agregación plaquetaria, la cual ocurre a través de puentes de fibrinógeno entre glicoproteínas de membrana.

La activación de las plaquetas es gracias a la activación de las fosfolipasas de la membrana celular, que promueven la liberación de  $Ca^{++}$ , el cual por sí mismo produce la agregación y secreción.

Tras la agregación y activación de las plaquetas, se liberarán nuevos factores agregan. Esto unido a la fase plasmática de la cual acción dará lugar a la formación de trombina y a la posterior sustitución del fibrinógeno soluble por una red de fibrina. En los gránulos liberados por las plaquetas se encuentran los factores de crecimiento<sup>182-3</sup>, los cuales pueden ser de diferentes tipos:

- 1- **Factor de crecimiento transformante beta (TGFbeta)**: se encuentran en las plaquetas principalmente, además de en los macrófagos, linfocitos, neutrófilos, células mesenquimales indiferenciadas (MSCs), osteoblastos y en la matriz ósea. Su función principal es la quimiotaxis y la diferenciación de las células mesenquimales indiferenciadas, además de la síntesis de colágeno por parte de los osteoblastos. También va a favorecer la angiogénesis e inhiben la formación de osteoclastos y la reabsorción ósea<sup>174</sup>.
- 2- **Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)**: es producido principalmente por macrófagos, osteoblastos (isoforma BB), condrocitos, fibroblastos y las células endoteliales. Favorece la angiogénesis a través de los macrófagos que actúan sobre las células endoteliales, realizando un efecto quimiotáctico y activador sobre las células de la inflamación (macrófagos), facilitando la mitogénesis mediante la proliferación y la quimiotaxis de células mesenquimales y favoreciendo, por parte de los osteoblastos, la formación de colágeno tipo I. El efecto mitogénico proviene en un 50 % de las plaquetas, siendo el resto proveniente de los factores de crecimiento<sup>175</sup>.
- 3- **Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)**: es producida, igualmente, por otros tipos celulares además de los fibroblastos, tales como los macrófagos, osteoblastos, plaquetas y células endoteliales. Inhibe a los osteoclastos y activa la proliferación y diferenciación de los osteoblastos. Respecto a los fibroblastos, favorecen la proliferación y la producción de fibronectina;

mientras que en las células endoteliales facilitan la mitosis y la quimiotaxis, favoreciendo la angiogénesis.

- 4- **Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF):** se encuentra en la matriz ósea, además de ser producido por las plaquetas, macrófagos, osteoblastos y células mesenquimales. Estimulan la proliferación y diferenciación de las células mesenquimales así como la activación de los osteoblastos para el remodelado óseo<sup>176</sup>.
- 5- **Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF):** su función se centra sobre la quimiotaxis y la proliferación de las células endoteliales. Tiene una acción de hiperpermeabilidad sobre los vasos puntos es producido por varias células, entre las cuales se encuentran plaquetas, macrófagos, osteoblastos y células del músculo liso y, sobre todo en estados de hipoxia.
- 6- **Factor de crecimiento epidérmico (EGF):** Su función es mitogénica, proapoptótica, migración y de diferenciación, no sólo de las células epiteliales, sino también de fibroblastos, células del cristalino, células renales y células gliales a partir de células mesenquimales<sup>186</sup>.

Aunque aún no se conocen exactamente los mecanismos exactos de actuación de los factores de crecimiento, el mecanismo de acción es bastante similar entre los distintos factores. Además, distintos factores de crecimiento pueden producir efectos biológicos contrarios en las mismas células (como son el PDGF y el TGF beta).

En el torrente circulatorio y la matriz extracelular se unen a proteínas específicas poco conocidas que impiden su rápida degradación. De manera general, los factores de crecimiento actúan a nivel de la membrana celular a través de receptores específicos que activan mecanismos de transducción de señales que penetran en el núcleo para la expresión de genes. El resultado producido es multifuncional y dependerá de la célula diana y del estado fisiológico de la misma, de la relación con otras células, la matriz extracelular y la presencia de otros factores<sup>187-8</sup>.



El mecanismo de acción que presentan los distintos factores de crecimiento sobre las células es muy parecido. Actúan a nivel de la membrana celular mediante receptores específicos, de manera que se inicia en el citoplasma una actividad de fosforilación del tipo tirosina-quinasa o bien serina-treonina quinasa, que activan rutas específicas de transducción de señal que se introducen posteriormente en el núcleo para la expresión de genes específicos.

### 1.8.2 Obtención de factores de crecimiento

El sistema utilizado permite la obtención de un plasma rico en factores de crecimiento a partir de un pequeño volumen de sangre, esto es, que puede ir desde 5 cc hasta la cantidad que precisemos para tratar la lesión en cuestión).

Es posible prepararlo en consulta de una forma que es fácilmente reproducible. El tiempo transcurrido desde la extracción sanguínea ya la obtención del plasma rico en factores de crecimiento es de unos 20 minutos.

Con esta técnica no se precisa de uso de trombina ni cualquier otro hemoderivado. Permite la obtención de un concentrado exclusivamente plaquetario. La exclusión de los leucocitos evita la presencia de las interleukinas proinflamatorias, que degradarían el colágeno tipo I.

Es un procedimiento en el que se utiliza la propia sangre del paciente, por lo que es autólogo, sin necesitar manipulación alguna ni adición de ningún otro producto.

Por tanto, el plasma rico en factores de crecimiento es un líquido activo en el que la coagulación se produce “in vivo”.

En el proceso de obtención de los factores sea de trabajar en condiciones de asepsia (esterilidad). Para el correcto procesamiento, se precisa el personal sanitario tenga la experiencia necesaria para ello.

Existen varios sistemas para la obtención de factores, como son:

- **Sistema PRGF<sup>®</sup>** : Como característica principal presenta rapidez y sencillez en el procedimiento, ya que no precisa el uso de equipos desechables, y con simples jeringas, tubos de ensayo y pipetas se puede obtener el plasma rico en factores de crecimiento.

De esta característica derivan sus principales ventajas, que son:

- Obtención inmediata, ya que la única infraestructura que necesita es la centrifugadora.
- Es el sistema más económico.

La principal desventaja es que si ha de ser muy meticuloso en la manipulación del plasma y en el para garantizar la esterilidad del procedimiento.

- **Sistemas PCCS<sup>®</sup> y GPS<sup>®</sup>** : Son sistemas parejos, por lo que comparten tanto ventajas desventajas. Ambos utilizan una centrifugadora y un dispositivo desechable con el que se obtiene un concentrado de plaquetas, con una concentración de factores de crecimiento menor a la obtenida con un sistema como en el AGF<sup>®</sup>, pero permiten o no utilización rápida a un precio menos elevado, asegurando la esterilidad del procedimiento.
- **Sistema AGF<sup>®</sup>** : precisa más tiempo de preparación que los previos, ya que precisa la extracción previa de 1 unidad de sangre del paciente para su procesamiento en el banco de sangre, aunque por contra esto nos garantiza la esterilidad y la obtención de plasma rico en factores de crecimiento y no de un concentrado de plaquetas.

Este sistema asegura, teóricamente, una mayor concentración de células de la serie blanca y del fibrinógeno. Los promotores aseguran que esta



característica favorece una liberación más prolongada de los factores de crecimiento (pudiendo alcanzar hasta 2 semanas).

#### Técnica de extracción y procesamiento:

Se procede a realizar una punción en vena periférica, tomando las medidas de asepsia pertinentes, obteniendo un volumen comprendido entre 20-60 cc de sangre.

Se recoge la muestra en tubos estériles con citrato sódico como anticoagulante.

El centrifugado se realizará durante ocho minutos a 1800 revoluciones por minuto, obteniéndose la separación de los diferentes contenidos de la sangre (ilustración 34), con lo que se consigue concentrar las plaquetas en la zona inmediatamente superior a la serie roja y que los leucocitos se sedimente en una capa inmediatamente por encima de los hematíes; permitiendo que un operador que esté entrenado pueda recoger plasma rico en factores de crecimiento sin ninguna contaminación de leucocitos.

Ilustración 34. Obtención del plasma tras la centrifugación

Tomado de la página 3 del artículo *“Plasma rico en factores de crecimiento”*

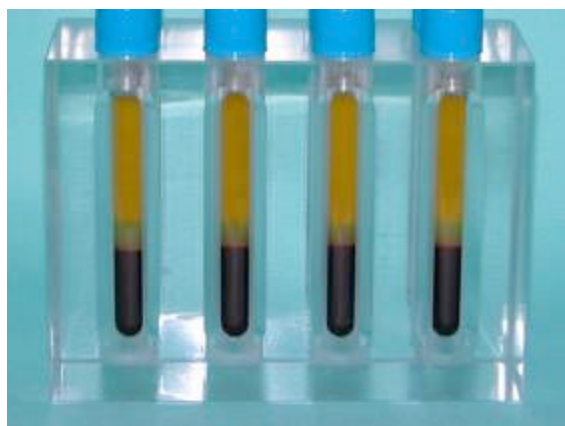
Como observaremos en la ilustración 35, la fracción plasmática queda dividida en tres fracciones: dependiendo del hematocrito del paciente puede variar el volumen de estas fracciones.

La fracción 1 (F1) contiene un número de plaquetas similar al que presenta la sangre periférica y es utilizado cuando es necesario para la preparación de un soporte de fibrina.

Ilustración 35. Fracciones que presenta tras el centrifugado

Tomado de la página 3 del artículo "*Plasma rico en factores de crecimiento*"

La extracción de las ha de realizarse bajo condiciones de mediante pipetas. las distintas son recogidas en estériles.



distintas fracciones las más estrictas esterilidad Una vez obtenidas fracciones, éstas recipientes

El coágulo se activa, finalmente, mediante cloruro cálcico al 10% en una proporción de 50µl. por cada 1000 µl. de suero. En forma líquida puede ser aplicado en las

infiltraciones intraarticulares, lesiones tendinosas y musculares, de manera que la coagulación se produce directamente en la zona de aplicación.

En el caso de las heridas, se puede obtener un coágulo rico en factores de crecimiento que es maleable y fácilmente aplicable en la zona lesionada. Si la superficie a tratar es extensa, se puede utilizar la fracción 1 (F1) rica en fibrina para que sirva como barrera de protección.

### 1.8.3 Plasma rico en plaquetas VS plasma rico en factores

Existen diferencias significativas entre el plasma rico en factores de crecimiento (PRFC) y el plasma rico en plaquetas (PRP), que van desde el volumen sanguíneo que se necesita para su obtención pasando por la diferencia entre ciclos, hasta los diferentes activadores que necesitan<sup>189</sup>.

Así, el PRP necesita un volumen sanguíneo entre 50 a 500 ml, mientras que el PRFC solamente precisa entre 5 y 40 ml.

El ciclo de centrifugado necesario para obtener el PRP es el doble, esto es, necesita dos ciclos de centrifugado alta velocidad (entre 1500 y 3000 rpm) durante más de 30 minutos, mientras que para el PRFC sólo es necesario un ciclo de centrifugado a 1800 rpm en un periodo de 8 a 10 minutos.

El PRP necesita, activador la trombina bovina, por lo que existe la probabilidad de rechazo por parte del paciente, mientras que el PRFC utiliza como activador el cloruro cálcico, por lo que es autólogo 100 %<sup>190</sup>.

El producto rico en plaquetas obtenido en el PRP se puede congelar, de manera que esté disponible en el momento de la intervención, incluso días después, mientras que el PRFC ha de ser aplicado inmediatamente tras su preparación, ya que la vida media de algunos factores de crecimiento es tan sólo de pocos minutos.

Otras diferencias significativas son:

- El PRFC posibilita la actuación conjunta de varios factores de crecimiento a la vez.
- Al ser un producto autólogo, el PRFC evita el riesgo de transmisión de enfermedades.
- Proporciona una fuente hemostática inmediato que es biocompatible, efectivo y seguro.
- El organismo puede resolver en días, iniciando una regeneración local.
- Es quimiotácticos para múltiples linajes de células.
- Facilita la manipulación y las reconstrucciones estructurales, ya que compacta injertos o biomateriales.
- El PRFC está prácticamente libre de leucocitos<sup>191</sup>.

En la siguiente tabla se recogen distintas diferencias:

	<b>PRP</b>	<b>PRFC</b>
<b>VOLUMEN SANGUÍNEO</b>	50-500	5-40 ml o más
<b>CICLOS DE CENTRIFUGADO</b>	2 a alta velocidad (1500-3000 rpm)	1 a baja velocidad (1800 rpm)
<b>ACTIVACIÓN PLAQUETAS</b>	Sí	No

<b>ACTIVADOR</b>	Trombina bovina (riesgo de rechazo)	Cloruro cálcico (no riesgo de rechazo)
<b>DURACIÓN CENTRIFUGADO</b>	> 30 min	15-20 min
<b>CONCENTRACIÓN GLÓBULOS BLANCOS</b>	Alta	Baja o nula
<b>PRODUCTOS OBTENIDOS</b>	Solo PRP	PRGF, fibrina, injertos, etc.

Tabla 4. Resumen diferencias PRP y PRFC

#### 1.8.4 Usos clínicos del plasma rico en factores de crecimiento

Los factores de crecimiento se utilizan en medicina para favorecer la curación de heridas y la formación de nuevos tejidos.

El plasma rico en factores se ha utilizado como ayuda a la regeneración ósea. Mediante estudios *in vitro* se ha demostrado que los factores de crecimiento derivados de las plaquetas estimulan la proliferación de células formadoras de hueso trabecular humano<sup>192</sup>.

Arriaza<sup>193</sup> realizó inyecciones percutáneas de plasma rico en factores en pacientes que habían sufrido fracturas en huesos largos, que junto a ondas de choque obtenía buenos resultados.

El plasma rico en factores de crecimiento también se está utilizando en desórdenes de los tejidos blandos, como son lesiones tendinosas, ligamentosas o articulares, las cuales representan en EEUU el 45% de las heridas musculoesqueléticas<sup>194</sup>.

El grupo de investigación encabezado por Eduardo Anitua realizó estudios respecto a los factores de crecimiento liberados por las plaquetas en la patología tendinosa para comprobar el potencial curativo del PRGF<sup>195</sup>.

La liberación del conjunto de los factores de crecimiento aumentan, *in vitro*, la proliferación de células tendinosas y estimulan a la vez la formación de factores angiogénicos como el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) y el HGF (factor de crecimiento hepático)<sup>196</sup>.

El HGF es, además, un agente antifibrótico muy potente que logra reducir la formación de cicatrices alrededor del tejido tendinoso, lo que mejora el proceso de cicatrización.

El grupo de investigación de Steed<sup>197</sup> llegó a la conclusión de que el tratamiento de úlceras en miembros inferiores, en pacientes diabéticos, una vez libre la herida de tejido necrótico e infectado, era un método eficaz para a estimulación y curación de las mismas.

Estos estudios también fueron llevados a cabo por otros grupos de investigación, como el de Escotto<sup>198</sup> y Martí-Mestre<sup>199</sup>, concluyendo que el tratamiento con factores de crecimiento era una herramienta más en la terapéutica de las úlceras de miembros inferiores. Analizaron los tejidos histológicamente de heridas crónicas en los que se apreciaba una escasa celularidad, con un bajo índice de fibroblastos, escasa formación de capilares y pocas células inflamatorias; mientras que en lo tejidos con cicatrización primaba un infiltrado de mononucleares y macrófagos, fibroblastos y abundantes capilares en neoformación.

En cirugía traumatológica se utilizan los factores de crecimiento. Everts<sup>200</sup> y su grupo de investigación realizaron un estudio sobre 165 artroplastias de rodilla, 85 e las cuales fueron tratadas con factores de crecimiento en su forma de gel, concluyendo que aquellos pacientes tratados con dicho gel precisaban menos transfusiones sanguíneas en comparación con el grupo control.

En la medicina y cirugía estética, los factores de crecimiento también han mostrado resultados significativos. La utilización de los factores tiene como finalidad la *bioestimulación* procedimientos mediante los cuales se consigue activar las funciones anabólicas de los fibroblastos para que sinteticen colágeno tipo III, elastina y ácido hialurónico.



Otras utilidades en las que ha mostrado efectividad el uso del plasma rico en factores de crecimiento son<sup>201-2</sup>:

- Terapia tópica: se utiliza en forma de coágulo para la reparación cutánea:
- Terapia subdérmica: se utiliza para remodelación local, relleno de cicatrices deprimidas o para el tratamiento de paniculopatía edematofibroesclerótica (celulitis).
- Terapia intradérmica: se utiliza a modo de mesoterapia para bioestimulación cutánea.
- Terapia tópica: tras la exfoliación química por pulverización, se utiliza para la bioestimulación cutánea.

## 1.9 MODELOS DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

Se define animal de laboratorio como “cualquier especie animal que se mantiene bajo condiciones determinadas y se utiliza con fines científicos”<sup>208</sup>. El animal de laboratorio es un instrumento fundamental, pieza clave en el estudio de las ciencias biomédicas. Se utilizan como modelos para la investigación y comprensión de la etiología, diagnóstico y tratamiento de enfermedades que atañen al ser humano, además de aportarnos información para el desarrollo y producción de fármacos<sup>207-8</sup>.

El uso de animales de experimentación en biomedicina ha resultado de gran relevancia a la hora del desarrollo de avances en la prevención y terapia de enfermedades, como por ejemplo en la vacuna de la rabia, tétanos, tosferina, poliomielitis, etc; uso de antibióticos, insulina, transplantes de órganos e investigación del cáncer, etc.

Para el investigador, el animal de experimentación es un reactivo biológico, por lo que hay que evitar su posible contaminación biótica, manteniendo la pureza del mismo y controlándola y contrastándola. Es por ello que se precisa de una producción de animales que han de estar estandarizados o definidos, con unas características genéticas

y sanitarias definidas, criándolos en un ambiente controlado que respeten los requerimientos que precise cada especie, cumpliendo siempre los principios éticos y de bienestar animal<sup>209</sup>.

En 1940 se creó, dentro de la medicina veterinaria, “la ciencia de los animales de laboratorio”, la cual se basa en investigaciones, normas, principios y legislaciones. Países como USA, Canadá, CEE y Japón poseen legislaciones nacionales y o institucionales para regular el uso de animales de experimentación en laboratorio, como son: International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS); Canadian Council of Animal Care (CCAC) y Federation of European Laboratory Animal Science (FELASA), entre otras. Estas instituciones publicaron guías con normas y recomendaciones generales para el cuidado y uso de animales de experimentación de forma científica, técnica y humanitariamente apropiada, además de tratar la planificación y conducción de las distintas investigaciones llevadas a cabo en dichos animales<sup>210-1</sup>.

Estas regulaciones están basadas en el principio de las 3 R's (Reducir, Reemplazar y Refinar), formuladas por Russel y Burch en 1959, y por comités institucionales de cuidado y uso de animales de laboratorio, los cuales han de examinar los protocolos de investigación para asegurar que los procedimientos realizados estén acorde a la reglamentación vigente<sup>212-3</sup>. Con estos fundamentos se pretende realizar una estrategia racional e inteligente, minimizando el uso de animales y las causas tanto de dolor como diestrés<sup>214-6</sup>.

El ratón es, para gran parte de la comunidad investigadora, un modelo animal casi perfecto ya que posee un corto tiempo generacional, es de fácil mantenimiento, su performance reproductiva es alta y son los animales más sofisticados que se pueden utilizar por lo investigadores<sup>217-8</sup>.

La Rata ocuparía el segundo lugar, ya que se utiliza además para investigaciones en nutrición, endocrinología y comportamiento de los individuos. El conejo es válido para producir antisueros, farmacología, toxicología, teratogénico ciudad y para la reproducción. Las cobayas suelen utilizarse como modelo de experimentación para

estudios inmunológicos, farmacológicos y nutricionales. El Hámster es utilizado sobre todo en la reproducción, citogénesis y en la inmunología<sup>218-19</sup>.

Hoy en día existen una gran variedad de modelos animales, que se han desarrollado y perfeccionado para poder realizar experimentos que son cada vez más sofisticados.

#### 1.9.1 Modelos experimentales con malla de ácido poliglicólico.

Con respecto a la malla de ácido poliglicólico, varios estudios han sido llevado cabo pero en ninguno de ellos se trata de reparar la hernia de forma definitiva, a pesar de nombrar sus ventajas como, por ejemplo, la disminución de seromas; ya que al reabsorberse la malla por completo en un plazo de 60-90 días desaparece la reacción a cuerpo extraño de forma paulatina.

Existen varios estudios publicados sobre prótesis de Polipropileno a las que se añade Poliglactina, buscando mejorar las características que presenta. En 2003, Rosch et al<sup>220</sup> utilizaron una malla de Vypro II® (malla macroporosa compuesta por fibras de Polipropileno y Poliglactina 910) para la reparación de hernias en ratas, comparando los resultados entre un grupo reparado con mallas de Vypro II® y otro con malla de Polipropileno. Las variables que se compararon fueron la inflamación producida, fibrosis, formación de granuloma (reacción a cuerpo extraño) y absorción del material; observándose un aumento inicial de la inflamación y la fibrosis en el grupo de la malla que contenía Poliglactina 910, pero a los 112 días la inflamación en este grupo era menor que en el que se utilizó la malla de Polipropileno.

En 2008, Weyhe<sup>221</sup> et al estudiaron, *in vitro*, el comportamiento de los fibroblastos sobre 3 mallas: microporosa de Polipropileno, macroporosa de Polipropileno y una composite de Polipropileno con Poliglactina 910; objetivando una respuesta biológica precoz en la malla composite pero con igual reacción a cuerpo extraño, a pesar de la hidrólisis de la parte compuesta por el material reabsorbible.

En 2010, Rice et al<sup>222</sup> llevaron a cabo un estudio comparativo en ratas, a las que se realizó un defecto herniario y se colocó posteriormente una mall de Surgisis® (mucosa

intestinal porcina), Alloderm® (matriz dérmica acelular humana) o Safyl® (ácido poliglicólico). Se utilizaron 54 individuos que fueron sacrificados a los 30 y 60 días, midiéndose la fuerza tensil con un tensiómetro, depósito de colágeno, la organización del colágeno en la matriz extracelular y la neovascularización. Ambas mallas biológicas presentaron una neovascularización, depósito de colágeno y organización del colágeno superior que la presentada por la malla de Vicryl®. Una vez incorporadas las tres mallas al tejido, presentan una similar resistencia a la tracción.

Es por ello que necesitamos mejorar la incorporación de neovasos y colágeno tras la colocación de la malla de Safyl®, para intentar al menos igualar los resultados obtenidos con las mallas biológicas.

Ese mismo año, Dolce et al<sup>223</sup> recubrieron prótesis de Safyl® con células madre y las colocaron intraperitonealmente, con el fin de reducir la formación de adherencias y mejorar la biocompatibilidad reduciendo la inflamación aumentando el crecimiento del tejido y la resistencia a la infección. Como resultados obtuvieron una menor formación de adherencias en aquellos animales a los que se implantó la prótesis de ácido poliglicólico recubierta con células madre respecto al grupo control, al que se colocó la malla sin recubrir a nivel intraperitoneal.

### 1.9.2 Modelos experimentales con alginato cálcico.

Como ya comentamos anteriormente, el uso del alginato en el mundo de la medicina se encuentra en auge hoy día debido a sus propiedades y biocompatibilidad. Al tener una naturaleza hidrófila y altamente porosa, permite la inclusión y diferenciación de células y/o vasos sanguíneos permitiendo metabolismo celular y su perfecto desarrollo como matriz celular. Las probabilidades de rechazo son mínimas, debido a su inmunocompatibilidad.

Varios son los artículos recientes sobre el uso de alginato en modelo animal. En 2013 se publicaron dos artículos sobre la utilización del alginato como agente hemostático. Taskin et al<sup>224</sup> utilizaron 32 ratas que dividieron en 4 grupos: el grupo I se trataba del grupo control en el que no se realizó laparotomía, el grupo II se realizó laparotomía y, seguidamente se cerró, el grupo III se realizó laparotomía con posterior lesión esplénica

tratada con gasa empapada en suero fisiológico y compresión durante 3 minutos y el grupo IV se realizó exactamente como en el grupo III pero se aplicó a la gasa alginato cálcico. Al comparar el valor del hematocrito tras la cirugía, el grupo IV mostraba un mayor porcentaje y un menor sangrado peroperatorio, el cual medían con una bolsa de Poliéster en la que se acumulaba el sangrado. En este mismo artículo se menciona el realizado por Henderson<sup>225</sup> en 1998 en el que demostró la disminución del sangrado en niños tras extracción dental.

En 2015, Aydin et al<sup>226</sup> utilizaron 39 ratas a las cuales se les realizó laparotomía con laceración hepática, tratándose en un grupo con una gasa impregnada en suero fisiológico, un segundo grupo con el hemostático Ankaferd y un tercer grupo con una gasa impregnada en alginato cálcico. Se midió la cantidad de sangrado peroperatorio y postoperatorio, al igual que los niveles de hematocrito antes, durante y después de la cirugía; obteniendo como resultado un menor sangrado en los grupos dos y tres con respecto al control. Además, en el grupo del alginato presentaban áreas de fibrosis en la línea de incisión hepática, lo cual no se apreciaba en el grupo control. En el grupo Ankaferd se apreciaban áreas de necrosis focal.

También se han realizado estudios en los que se ha utilizado el alginato como andamio. En 2013, Batoool Hashemibeni et al<sup>227</sup> encapsularon osteoblastos derivados de células madre, obtenida de tejido adiposo de perros, en andamios de alginato. Utilizaron alginato sin presencia celular en un grupo y alginato con osteoblastos encapsulado en otro y se comparó con el grupo control, realizando un defecto óseo en la tibia en los 3 grupos. Los grupos que presentaban alginato como tratamiento obtuvieron mejores resultados que el grupo control, teniendo mejores resultados el grupo con alginato y osteoblastos.

En 2015, Matoba et al<sup>228</sup> realizaron un estudio en dos grupos de ratas:

En el primero de ellos, utilizar un 40 ratas que dividieron en cinco grupos. En el primero de ellos, utilizaron una malla de ácido poliglicólico, en el segundo añadieron cola de fibrina a dicha malla, y los otros tres grupos restantes añadieron alginato de sodio: en el primero añadiendo al alginato gluconato cálcico (SL), en el segundo realizaron lo mismo pero con menor cantidad de gluconato cálcico (WL) y el tercero sin gluconato (NL).

En el segundo grupo de ratas utilizaron 60 individuos, los cuales fueron divididos en 10 subgrupos: un primer subgrupo al que agregaron a la malla alginato con gluconato cálcico en baja concentración (WL) y un segundo subgrupo al que añadieron alginato sin gluconato cálcico (NL). Estos subgrupos estaban divididos en 5 cada uno, de forma que la cantidad de alginato añadida iba en aumento.

Estudiaron así el grado de adherencias producido, la ascitis provocada y la inflamación y remodelación tisular, así como las células mesoteliales inducidas por el alginato mediante estudios inmunohistoquímicos.

Finalmente, como resultados obtuvieron que a mayor dosis de alginato menor grado de adherencias, siempre y cuando la cantidad de gluconato cálcico añadida sea baja o ninguna. La ascitis no se consideró que fuera inflamatoria, teniendo en cuenta además que Aksoy et al<sup>229</sup> mostraron en su estudio que la presencia de ascitis evitaba las adherencias, por lo que la ascitis detectada se puede deber a los efectos antiadhesivos. Gracias a la inmunohistoquímica, observaron que las ratas a las que se añadió alginato con baja cantidad de gluconato cálcico (WL) y sin gluconato cálcico (NL) presentaban en la superficie de la malla una capa de células mesoteliales bien formada, lo cual se traduce en menor cantidad de adherencias. Con esta misma técnica se estudiaron dos tipos de macrófagos: los macrófagos inflamatorios, que prevalecían la malla a la que se había añadido alginato con cantidades elevadas de gluconato cálcico; y los macrófagos para la remodelación tisular, los cuales se presentaban en mayores cantidades en aquellas ratas a las que no se les había agregado gluconato cálcico al alginato. Por tanto, a menor cantidad de calcio, mayor remodelación tisular y mayor perfil de remodelación, mientras que a mayor cantidad de calcio, mayor perfil de inflamación.

Poco antes había sido publicado un estudio llevado a cabo por Chaturvedi<sup>230</sup> en el que realizó una lesión a nivel cecal y otra a nivel de peritoneo parietal, agregando o no, de forma aleatoria, posteriormente alginato a un grupo de 46 ratas. Obtuvieron como resultados la reducción significativa de la incidencia de las adherencias en aquellas ratas a las que se aplicó el alginato.

### 1.9.3 Modelos experimentales con factores de crecimiento.

Como estudio a resaltar tenemos el realizado por Plencner et al<sup>231</sup> en 2014, en el que estudiaron los diferentes resultados obtenidos al utilizar, en conejos chinchilla, cierre de laparotomía de 6 formas distintas: sutura simple con polipropileno 4/0, malla de polipropileno, malla de polipropileno envuelta en nanofibras de policaprolactona y factores de crecimiento, nanofibras de policaprolactona y factores de crecimiento, polipropileno envuelto en fibras de policaprolactona y un sexto y último grupo con nanofibras de policaprolactona.

Los especímenes fueron sacrificados a las 6 semanas, realizándose la exéresis en bloque de la pared abdominal para someterla a diferentes estudios.

Se realizaron estudios de tensión, mediante un tensiómetro, e histológicos de las piezas con microscopía electrónica, tinciones de H/E y tricrómicro con apoyo de inmunohistoquímica para marcar las fibras de actina del músculo liso.

Como conclusión de dicho estudio obtuvieron resultados positivos de las nanofibras de policaprolactona sobre la regeneración de la fascia y que dicha regeneración mejoraba, ya que aceleraba el proceso, al añadir factores de crecimiento.

## 2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO

No existe la menor duda que hoy en día la reparación de una eventración debe pasar, en la mayoría de los casos, por la utilización de material protésico, quedando las reparaciones con tejidos autólogos relegada a casos muy concretos. El gran avance del empleo de prótesis, en los últimos años, como hemos visto con anterioridad, ha ido paralelo a los descubrimientos de nuevos biomateriales con la que poder construirlos. Es un requisito fundamental que no produzcan reacciones negativas o efectos que alteren el sistema biológico del receptor, local o sistémicamente; en definitiva que sean biocompatibles y que al mismo tiempo induzcan una reacción inflamatoria suficiente capaz de generar una eficaz cicatrización.

Aunque actualmente existen numerosas prótesis que pueden ser utilizadas adecuadamente para reparar el defecto herniario, la gran mayoría de las que se emplean de forma efectiva para la reparación requieren que no se reabsorba con el tiempo, encontrándose presente para siempre dentro del magma fibroso creado, lo cual no deja de ser un material extraño que potencialmente puede dar complicaciones, aún más cuando se colocan en pacientes jóvenes (no se conocen aún las posibles complicaciones a largo plazo), en contacto con las asas intestinales o en campos infectados.

Si bien existen prótesis reabsorbibles, su utilización está grabada con una mayor tasa de fracaso en la reparación del defecto herniario, ya que aunque existe una reacción fibrótica ésta no es lo suficientemente importante para dar el soporte tensivo adecuado a la pared abdominal, y por tanto los potenciales beneficios de que aportan este tipo de prótesis no es suficiente para recomendar su utilización sistemática.

De especial interés dentro de los biomateriales reabsorbibles sintéticos tenemos la ácido poliglicólico, por su gran resistencia y rigidez, y su capacidad de conferir un verdadero andamio a las propias células del organismo. Debido a que a los 14 días mantiene una fuerza tensil del 50 % y esta disminuye al 20 % a los 21 días y junto a que a partir de los



56 días la prótesis queda degradado y prácticamente absorbida por el cuerpo<sup>234</sup>, no es utilizada para la reparación de hernias hoy en día. Además, el tejido generado durante este tiempo no es de la suficiente calidad para dar un soporte tisular definitivo<sup>203, 205-6</sup>.

El alginato es un polisacárido que puede ser empleado en gel y que ha sido utilizado en los últimos años como andamio tisular, ya que es bicompatible y biodegradable, además de ser un biomaterial que favorece una migración celular precoz y efectiva.

Por último tenemos los factores de crecimiento, que como hemos visto son elementos imprescindibles en la cicatrización, y que pueden ser extraídos del propio paciente, en el caso de que queramos utilizarlo localmente para inducir un proceso reparativo precoz.

Por todo lo anterior, hemos planteado la hipótesis de que el uso de una malla de Ácido Poliglicólico, junto con gel de alginato y factores de crecimiento, debería inducir un mayor proceso reparativo, con menor reacción a cuerpo extraño ya que son elementos que finalmente se degradan y eliminan por completo.

Buscamos, por lo tanto, un proceso de regeneración más que reparación de la pared abdominal dañada.

Se contempla un cálculo de la “n” al mínimo con el fin de obtener la mínima información y limitar potencialmente el uso de más animales. La mayoría de los artículos que estudian esta patología en ratas W, trabajan con un tamaño muestral entre 10 y 20, por grupo.

Se ha practicado técnicas refinada con el fin de evitar la inclusión de nuevos animales que requieran la repetición del procedimiento.

### 3. OBJETIVOS

Los objetivos que hemos planteado en nuestro trabajo de investigación son los siguientes:

#### 1. General

Mediante un modelo de experimentación animal, evaluaremos el comportamiento de mallas reabsorbibles de ácido poliglicólico impregnadas en alginato y en alginato con factores de crecimiento.

#### 2. Específicos

- Analizar histológicamente el comportamiento de la malla de ácido poliglicólico en el grupo control, para tomarlo como referencia de nuestro estudio, a los 14 y a los 28 días. Este comportamiento se estudiará tanto a nivel intraperitoneal como supraaponeurótico.
- Analizar histológicamente el comportamiento de dichas mallas al añadirle el biomaterial y el biomaterial con factores de crecimiento, tras la colocación de la malla a los 14 y a los 28 días. Este comportamiento se estudiará tanto a nivel intraperitoneal como supraaponeurótico.
- Examinar, desde el punto de vista histológico, los grados de inflamación, vascularización, fibrosis e hidrólisis de la malla; en los diferentes períodos (14 y 28 días) y a distintos niveles (intraperitoneal y supraaponeurótica).
- Realizar un estudio descriptivo sobre la mortalidad en ratas tras la colocación de las distintas mallas y sobre la morbilidad, estudiando la posible aparición de abscesos y fístulas (estas solamente en aquellas mallas colocadas intraperitonealmente).

- Realizar un estudio comparativo entre las mallas colocadas a nivel intraperitoneal del grupo control, mallas con alginato y mallas con alginato y factores de crecimiento; para aclarar si existen diferencias significativas.
- Realizar un estudio comparativo entre las mallas colocadas a nivel intraperitoneal del grupo control, mallas con alginato y mallas con alginato y factores de crecimiento; para aclarar si existen diferencias significativas.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para el estudio realizado, se ha utilizado como modelo animal la rata albina de la variedad *Wistar*, de la especie *Rattus norvegicus* (figura 14).

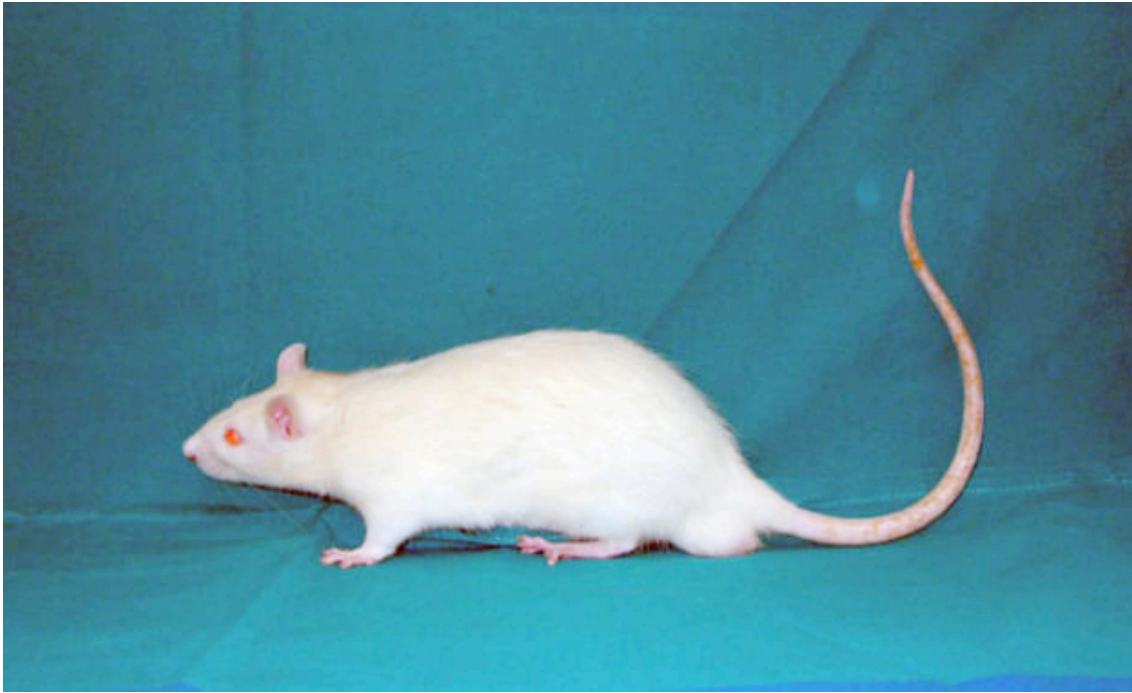


Figura 14. Rata Wistar.

En la literatura consultada podemos encontrar distintos métodos experimentales realizados para llevar a cabo estudios del comportamiento en la hernia abdominal de las mallas. Dichos estudios fueron llevados a cabo tanto en cadáveres humanos en las primeras 24 horas posmortem como en animales, tales como el cerdo, perros, conejos o ratas.

Para el estudio de investigación que hemos realizado se decidió elegir la rata como modelo de experimentación, debido a los siguientes motivos:

- Fácil disponibilidad en el Laboratorio de Cirugía Experimental en la que se llevó a cabo el proyecto de investigación.
- El peso por grupos fue el siguiente:
  - Grupo Control: 240,20 (196-2684) gramos
  - Grupo Alginato: 246, 20 (195-348) gramos
  - Grupo Alginato-Factores 232,70 (194-317) gramos
- La pared abdominal que presenta dicho animal, nos permite realizar un defecto herniario de forma artificial para, posteriormente, fijar una prótesis a nivel intraperitoneal y otra supraaponeurótica en el mismo acto quirúrgico.

- Presenta, además, una alta velocidad de reproducción (su ciclo reproductor se perpetúa a lo largo de todo el año), similitudes fisiológicas respecto al ser humano y fácil manejo.
- Vida media larga.
- Coste relativamente bajo.

Al igual que en el ser humano, la pared abdominal de la rata está compuesta por los siguientes músculos: oblicuo externo del abdomen, oblicuo interno de las domen, transverso del abdomen y músculo recto de la abdomen. Bajo esta capa muscular vamos a encontrar el peritoneo, el cual contiene las siguientes vísceras abdominales: hígado, bazo, riñones, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, colon, recto, etc.

## 4.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se ha realizado un estudio prospectivo, comparativo y cuasi-experimental en modelo animal. Se dividieron en 3 grupos con un subgrupo dentro de cada uno de ellos, con un total de 50 ratas:

- a) GRUPO A (10 ratas): hernioplastia supraaponeurótica e intraperitoneal con malla de ácido poliglicólico.

El grupo A1 se sacrificó a los 14 días, mientras que el grupo A2 se sacrificó a los 28 días.

- b) GRUPO B (20 ratas): hernioplastia supraaponeurótica e intraperitoneal con malla de ácido poliglicólico a la que se añade gel de alginato cálcico.

El grupo B1 se sacrificó a los 14 días, mientras que el grupo B2 se sacrificó a los 28 días.

- c) GRUPO C (20 ratas): hernioplastia supraaponeurótica e intraperitoneal con malla de ácido poliglicólico a la que se añade gel de alginato cálcico junto a factores de crecimiento.

El grupo C1 se sacrificó a los 14 días, mientras que el grupo C2 se sacrificó a los 28 días.

## 4.3 INSTALACIONES

Las intervenciones quirúrgicas realizadas en los animales utilizados como modelo experimental, al igual que su seguimiento y estabulación hasta el sacrificio, fue realizado en el Servicio de Producción y Experimentación animal del Instituto de biomedicina de Sevilla (IBIS) en el Hospital Universitario Virgen del Rocío, en Sevilla (Centro registrado y autorizado ES 410910008015), creado en Marzo de 2006 para la investigación biomédica multidisciplinar (figura 15).



Fig 15. IBiS (Instituto de biomedicina, Sevilla)

#### 4.4 MATERIAL QUIRÚRGICO

En quirófano se utilizaron instrumentos limpios no esterilizados. El personal de quirófano utilizó pijama adecuada, mascarilla, gorro y calzas. Para las intervenciones, se utilizaron guantes estériles además del siguiente material:

##### Instrumental quirúrgico:

a) Instrumental básico de laparatomía (Figura 16):

- Hojas de bisturí estériles desechables del número 11.
- Pinzas de disección de Cushing (con y sin dientes).
- Tijera curva de Mayo-Stille.
- Tijera recta de Mayo-Stille.
- Pinzas de Kocher.
- Portaagujas de Mayo-Hegar.
- Gasas.
- Paños estériles de un solo uso.
- Suturas: sutura reabsorbible de ácido poliglicólico (4/0) para hernioplastia; sutura de seda trenzada para piel (3/0).

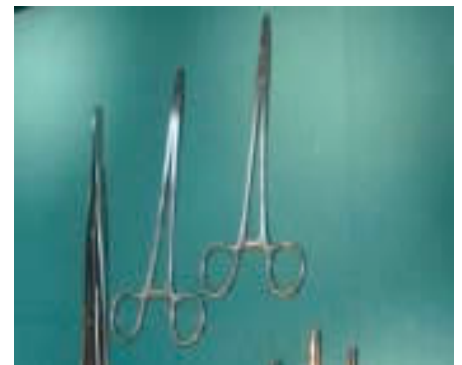


Fig 16.

b) Material complementario para laparotomía:

- Regla y rotulador estériles.
- c) Instrumental específico para el experimento:
- Jaulas individualizadas para cada animal de experimentación.
  - Pienso de rata para la alimentación animal.
  - Prótesis: malla de ácido poliglicólico que se recorta en partes iguales de tamaño 4 x 4 cm.
  - Gel de alginato sódico.
  - Gluconato cálcico.
  - Factores de crecimiento.

#### 4.5 ALGINATO. ELABORACIÓN DEL GEL. PREPARACIÓN DE MALLAS DE ÁCIDO POLIGLÓLICO

El alginato (copolímero de ácido D-manurónico y ácido D-gulurónico) es un polisacárido distribuido ampliamente en las paredes celulares de algunas algas pardas. En ellas, forma un complejo de ácido algínico como componente principal y de sales de metales alcalinos, los cuales se hallan en distintas proporciones.

Como propiedades que presenta el alginato, la viscosidad va a depender de la concentración que esta contenga del mismo, ya que se eleva mucho a partir del 2 %. La temperatura también va a influir, ya que la viscosidad disminuye a medida que aumenta ésta.

Es soluble en mezclas de agua y en distintos solventes orgánicos miscibles en ella, como el alcohol, pero es insoluble en aquellas que contienen calcio, como la leche por ejemplo.

De esta manera, al añadir a una solución de alginato sódico otra solución que contenga sales cálcicas, se genera un complejo polimérico que va a precipitar, de manera que se obtiene así un gel sólido y estable.

##### Materiales:

- Alginato sódico de mediana viscosidad (A2033 Sigma-Aldrich Co. LLC, St Louis, Missouri, USA), al 4 % de concentración (W/V).
- Gluconato cálcico 0,6 % (B. Braun, Melsinger, Germany).
- Unguator®.
- Gako®.

- Peso.
- Vajilla laboratorio.
- Malla (ácido poliglicólico, Safyl®).

El proceso finalmente de elaboración del gel que se utilizó para impregnar las mallas constaba de las siguientes etapas:

1. Pesamos el alginato y lo disolvemos en la mitad del volumen final de agua bidestilada que le corresponda hasta conseguir una concentración al 4 %. Se deja en reposo durante 24 horas para que la formación de grumos/burbujas sea la menor. Para la disolución se utilizó el homogeneizador (figura 17) a 25.000 rpm durante 30', a temperatura ambiente.



Figura 17. Peso

2. Se añade gluconato cálcico al 0,6 % y se disuelve en la otra mitad restante de agua bidestilada. Nuevamente utilizamos el agitador para facilitar la disolución, aplicando calor al mismo tiempo hasta que la mezcla esté totalmente transparente. Una vez conseguido, se deja enfriar a temperatura ambiente.
3. Se coloca el recipiente que contiene el alginato en el homogeneizador y se añade un tercio del gluconato, agitándolo durante 2' a 1450 rpm. Se repetirá este paso otras dos veces más hasta la obtención del gel (figura 18).





Figura 18. Solución gelificada de alginato cálcico

Una vez obtenido el gel, se procede a sumergir en el mismo las mallas de ácido poliglicólico de 3 cm<sup>2</sup> (figura 19), como paso previo a la esterilización con UV durante una hora.



Figura 19. Mallas de ácido poliglicólico con alginato.

#### 4.6 OBTENCIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTO

##### Materiales:

- Jeringas.
- Agujas.
- Bull-dog.

- Centrifugadora Unicen 21®.
- Tubos de extracción de sangre siliconado Venoject®.
- Cloruro cálcico.
- Tubo de Eppendorf

Para la obtención de factores de crecimiento fue necesario el sacrificio de 20 ratas. El método realizado en cada una de ellas fue el siguiente:

1. Laparotomía y entrada en cavidad peritoneal, eviscerando las asas intestinales y localizando la vena cava, la cual clampamos con un “bull-dog” (figura 20.)

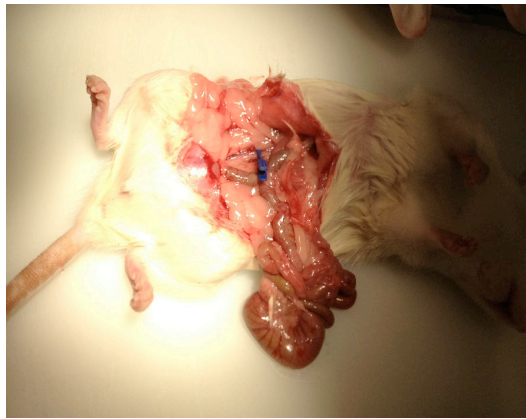


Figura 20. Clampaje de vena cava inferior a nivel infrahepático.

Luego se procede al aspirado del máximo volumen sanguíneo posible con una aguja intradérmica (figura 21).

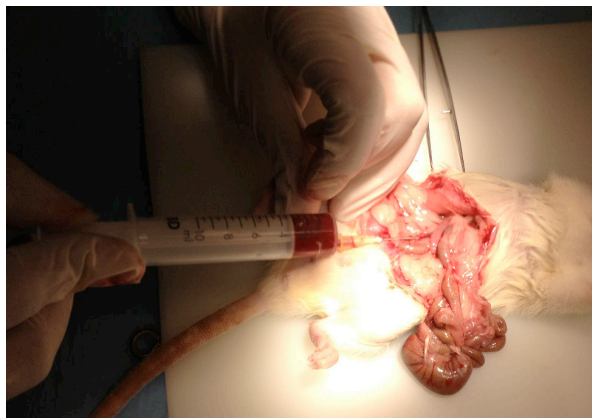


Figura 21. Aspirado sanguíneo.

- Una vez obtenida la sangre, se introduce en un tubo de citrato de sodio para evitar la coagulación de la misma y se coloca en una centrifugadora a 460 g durante 8' y a una temperatura de 25ª C (figura 22).



Figura 22. Centrifugadora.

- Tras la centrifugación, se colocarán los tubos de manera cuidadosa en una gradilla. Se puede observar claramente dos fracciones bien diferenciadas: una fracción de color rojo a nivel inferior (que es la que contiene los hematíes) y otra amarillenta superior (conteniendo plasma un plaquetas). Se marca con un rotulador indeleble en una raya horizontal justo al nivel de separación de estas dos fracciones (figura 23).

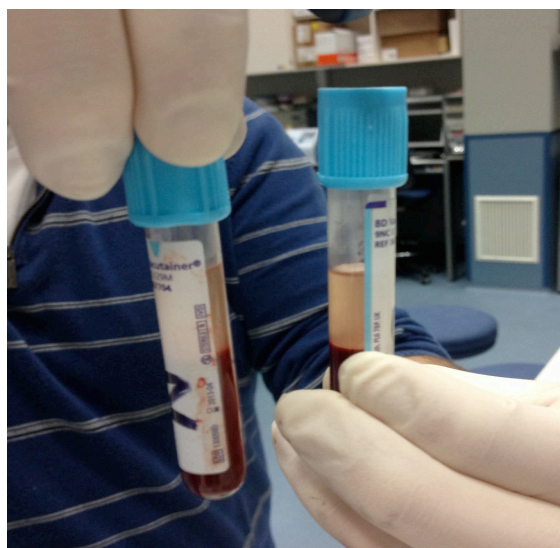


Figura 23. Tubos centrifugados con las dos fracciones diferenciadas.

Se marca una segunda raya a 1 ó 2 mm por encima de la primera, siendo en esta zona donde se encuentran los glóbulos blancos (que hay que evitar extraer porque contienen factores pro inflamatorios).

Se marca una tercera línea justo en el límite superior del plasma.

4. Con ayuda de una regla medimos esta fracción y con un rotulador indeleble la dividimos en dos partes iguales: la parte superior la llamaremos PPP (plasma pobre en plaquetas) y la parte inferior PRP (es la que contiene el plasma rico en plaquetas).
5. Con una pipeta estéril se succiona la fracción superior de plasma (PPP), depositando una en un tubo eppendorf (figura 24). Con el mismo procedimiento, se se deposita la parte inferior del plasma (PRP) en otro tubo eppendorf.
6. En caso de no ser utilizados de forma inmediata, se mantendrán a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ .



Figura 24. Tubo eppendorf.

7. Para activar tanto el PPP como el PRP justo antes de utilizarlos, mezclaremos el volumen extraído con el correspondiente volumen de  $\text{CaCl}_2$  al 10 % según la relación:

Para 2 ml PRP/PPP añadir 0,1 ml  $\text{CaCl}_2$  al 10 %.

#### 4.7 CONSIDERACIONES LEGALES Y ÉTICAS

Este proyecto de investigación obtuvo un informe favorable (APTO) tras ser valorado por el Comité de Ética de la Investigación del Hospital Universitario Virgen del Rocío, quedando constancia de ello en las actas 02/13.

Este proyecto se encuentra ubicado en la Categoría de la clasificación del IACUC (Institutional Animal Care and Use Comité), en la que se encuentran incluidos los

procedimientos que provocan o inducen dolor moderado, estrés o malestar, los cuales son inhibidos o eliminados con los analgésicos o anestésicos que se precise<sup>232</sup>.

Durante el período comprendido del proyecto de investigación experimental, los animales se trataron según los acuerdos del Consejo de Europa para la protección de los modelos de experimentación animal utilizados.

Se garantizó, en los distintos procedimientos del proyecto, el reemplazo y la reducción del número de animales, además del alojamiento, el cuidado y la utilización éstos. Se ha minimizado en la medida de lo posible el dolor, sufrimiento y estrés que potencialmente podían desarrollar dichos animales.

El sacrificio se llevó a cabo bajo las directrices que podemos encontrar en la Directiva Europea ya mencionada, en la cual también se hace referencia a los animales y su sacrificio humanitario.

La justificación del uso de este modelos experimental se basa en la no existencia de otro tipo de procedimiento que nos permita conseguir los resultados esperados.

- Normativa:
  - *DIRECTIVA DEL CONSEJO DE EUROPA 86/609/CEE, sobre aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los estados miembros respecto a protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. 24 de noviembre de 1986.*
  - *REAL DECRETO 223/1988, del 14 de marzo sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. B.O.E. de 18 de Marzo de 1988.*
  - *INSTRUMENTO de Ratificación del Convenio Europeo sobre protección de los animales vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos, hecho en Estrasburgo el 18 de marzo de 1986. B.O.E. de 25 de Octubre de 1990.*
  - *REAL DECRETO 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.*

#### 4.8 INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA. PROCEDIMIENTOS

Nos disponemos a desarrollar el proceso llevado a cabo para la realización de defecto herniario, colocación de la malla y posterior sacrificio con toma para de muestras para posterior análisis histológico.

##### 4.8.1 Período preoperatorio

Los modelos animales de experimentación fueron vigilados e inspeccionados durante las 72 horas previas a la intervención, para poder evidenciar y descartar cualquier signo de enfermedad. El *pienso concentrado estándar especial roedores* fue el utilizado para alimentar a los sujetos.

Previo a la intervención, no se realizó el pertinente ayuno preoperatorio, por lo que los animales dispusieron en todo momento de comida y agua a su propio antojo. La profilaxis antibiótica no fue llevada a cabo, ya que la relativa tasa de infecciones producida en roedores es baja.

#### 4.8.2 Período operatorio

##### 1. Procedimiento anestésico.

Gracias a los anestésicos utilizados en la Cirugía Experimental, se consigue eliminar el dolor manteniendo tanto el ritmo cardíaco así como la función respiratoria dentro de los límites fisiológicos.

Para el estudio realizado se utilizó un protocolo basado en la combinación de Ketamina y Xilacina. Se procedió a pesar a los animales previa administración del combinado anestésico, para ajustar así la dosis precisa.

- La **Ketamina** es una droga disociativa con propiedades anestésicas, además de sedantes, analgésicas y con potencial alucinógeno, además de producir broncodilatación y aumento de la tensión arterial. Se utiliza tanto en humanos como animales. Se utiliza tanto para la inducción como el mantenimiento de la anestesia general, en combinación con un sedante (la Xilacina en nuestro caso). Precisa de unos 10 minutos aproximadamente para conseguir el máximo efecto, quedando los animales plenamente recuperados en 60 a 90 minutos.
- La **Xilacina** es un agonista de los receptores alfa-2 adrenérgicos. Es un sedante muy potente, además de miorrelajante y analgésico. La acción sedante y analgésica se debe a una depresión del sistema nervioso central, mientras que el efecto de relajación muscular se genera por la inhibición de la transmisión intraneural en el sistema nervioso central. Tras la inyección intramuscular los efectos se desarrollan de 10 a 15 minutos, mientras que si es endovenosa el tiempo desciende entre 3 a 5 minutos.

La dosis utilizada para la inducción anestésica fue un combinado de Ketamina con Xilacina a razón de 80 y 10 mg/kg de peso, respectivamente, inyectándose a nivel intraperitoneal. Dicha punción se realizó con aguja intradérmica a nivel de hipogastrio. En algunos casos se precisó administración extra del combinado debido a la existencia de movimientos tras una estimulación podal (se procede a comprimir con una pinza una de las extremidades inferiores del animal para ver

si hay o no respuesta por parte del mismo, lo cual nos indica un índice bajo de sedación), administrando la mitad de la dosis inicial.

## 2. Procedimiento quirúrgico.

Las intervenciones realizadas, tanto realización de defecto herniario como colocación de malla y posterior sacrificio, fueron llevadas a cabo por el mismo cirujano/investigador.

### **Descripción.**

Todos animales precisaron rasurado previo a la intervención. Fueron colocados en posición de decúbito supino y con extensión de las cuatro extremidades, las cuales se fijaron a una tabla quirúrgica, sobre la cual se colocó un paño estéril. Se aplicó Povidona yodada sobre la pared abdominal previo a la laparotomía.

Laparotomía: se realizó una incisión a nivel de línea media hasta alcanzar plano muscular, disecando todo el subcutáneo desde el apéndice xifoides al pubis, desde línea axilar derecha a fosa ilíaca derecha y desde línea axilar izquierda a fosa ilíaca izquierda.

**1ª intervención (realización de defecto herniario):** Una vez expuesto todo el plano muscular, se procede a marcar en la pared abdominal con un rotulador estéril el futuro defecto a realizar de 1,5 cm<sup>2</sup> (figura 25). A nivel de flanco derecho se realiza defecto hernia supraaponeurótico (figura 26), mientras que a nivel de flanco izquierdo se realizó un defecto de 1,5 cm<sup>2</sup> que comprendía aponeurosis, músculo y peritoneo, quedando en contacto las asas intestinales con tejido subcutáneo (figura 27). Para evitar el cierre de dicho orificio se marsupializaron los bordes con sutura de ácido poliglicólico 4/0.

Se procede al cierre de la piel con seda 3/0.



Figura 25. Marcaje con rotulador de zona a herniar.





Figura 26. Defecto supraaponeurótico.



Figura 27. Defecto intraperitoneal.

**2ª intervención (colocación de malla):** A los 7 días de la primera intervención se procede a la reapertura de laparotomía previa, disecando nuevamente el tejido subcutáneo como en la intervención anterior. Una vez expuestos ambos defectos herniarios realizados en la cirugía previa, se procede a la colocación de las mallas de ácido poliglicólico de tamaño 2 x 2 cm (figura 28), las cuales serán fijadas con sutura de ácido poliglicólico del 4/0.

Dependiendo si la rata pertenece al grupo A, B o C se colocará malla sin biomaterial, malla con alginato o malla con alginato y factores de crecimiento.

En caso de tratarse del grupo A, se colocará la malla de ácido poliglicólico.



En caso de tratarse del grupo B, se colocará la malla de alginato cálcico, añadiendo a dicha malla 1 ml de  $\text{CaCl}_2$  al 1 % para la encapsulación del mismo.

En caso de tratarse del grupo C será necesario sacar del congelador los factores de crecimiento con 1 hora de antelación. Justo antes de colocar la malla con alginato, se añaden con una pipeta a la misma 2 ml de PRP/PPP (ya activados previo a la congelación) y se añade 0,1 ml de  $\text{CaCl}_2$  al 1 % para la encapsulación del alginato, al igual que hacíamos con las mallas del grupo B.

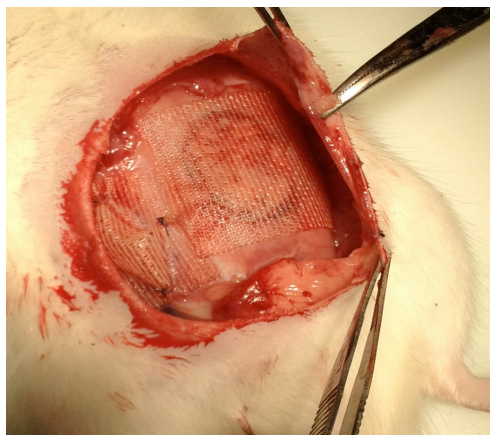


Figura 28. Mallas de ácido poliglicólico cubriendo defectos herniarios.

#### 4.8.3 Período postoperatorio

Tras ambas intervenciones, los animales permanecieron en una sala que se encuentra anexa al quirófano experimental, hasta su plena recuperación de la consciencia. Tras este paso, son transportadas al animalario para estabulación y donde permanecerán hasta la siguiente intervención.

Diariamente se realizó una evaluación clínica de cada uno de los animales, valorando su estado de salud con diferentes parámetros (anorexia, movilidad, piloerección, hundimiento de globo ocular, comportamiento anormal).

Como analgesia postoperatoria se aplicó, vía subcutánea, Meloxicam 2 mg/kg de forma inicial y 1 mg/kg tras 24 horas.

**3ª intervención (sacrificio y obtención de muestras):** a los 14 ó 28 días, según correspondiera para cada rata, se procedió al sacrificio.

Para el sacrificio de los animales emplearemos Pentobarbital Sódico intraperitoneal diluido para evitar el dolor provocado por la irritación del mismo en el peritoneo, a una concentración 18%, 200 mg/ml a una dosis de 200mg/Kg.

Protocolo:

1. Pesar el animal y calcular la dosis según las referencias dadas.
3. Preparar el material (jeringas y agujas, algodón y alcohol)
4. Disolver si es necesario el barbitúrico e introducir en la jeringa la dosis exacta
5. Preparar al animal inmovilizándolo con una mano e inyectándole el barbitúrico con la otra.
6. Dejar en su jaula al animal y esperar que le sobrevenga la muerte, observando los signos indicativos del proceso.

Una vez más, se realizó la reapertura de la laparotomía previa, quedando expuesta la pared abdominal en su totalidad (figura 29). Se procedió a la exéresis en bloque de toda la pared abdominal (figura 30), referenciando con un punto de seda del 3/0 la parte craneal y con dos puntos de seda 3/0 la parte caudal, introduciendo la muestra en un bote con formaldehído al 4 % (figura 31). La razón de referenciar con seda fue que así podíamos definir de forma clara y sin dudas cuál era el flanco derecho y cuál el izquierdo, caso de descomposición de la muestra antes de su estudio histológico que no permitiera reconocer con claridad de qué lado se trataba.

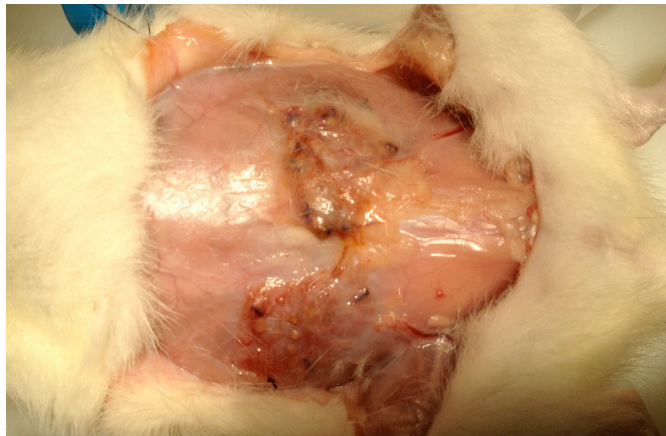


Figura 29. Exposición de pared abdominal.



Figura 30. Exéresis en bloque de pared abdominal.

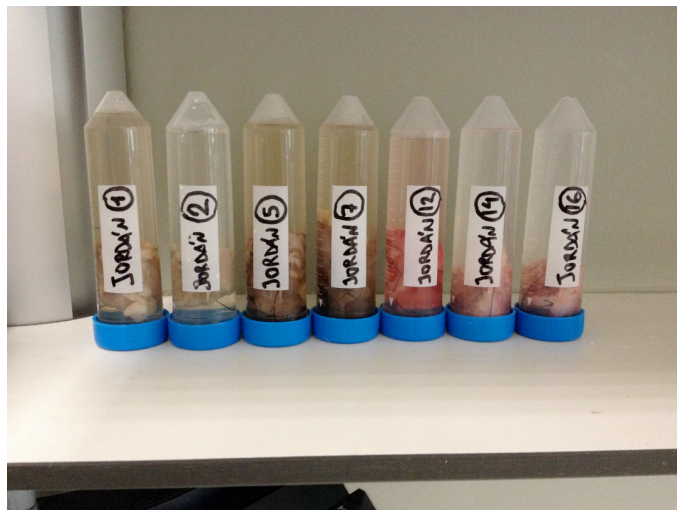


Figura 31. Piezas introducidas en formaldehído al 4 %.

#### 4.8.4 Procesamiento de las muestras obtenidas

El estudio de microscopía óptica se realizó con una Olympus BX 61. Para ello, se procedió a la deshidratación mediante solventes aclarantes y posterior inclusión en parafina, constituyéndose así bloques para el examen histológico. Con la ayuda de un microtomo, se realizaron secciones de un grosor aproximado de 4 micras, colocándose después la pieza en un porta-objetos mediante adhesivos. Nuevamente se procedió al secado y hidratación de las muestras, quedando así preparadas para la tinción final.

Para el examen de los diferentes cortes se utilizaron dos tipos de tinción:

- Hematoxilina-Eosina (H-E): de esta forma conseguimos teñir de color morado estructuras ácidas tales como el núcleo celular, mientras que con la eosina conseguimos teñir de color rosa las estructuras alcalinas, como son los citoplasmas celulares.

- Tricrómico de Masson (Tri): esta tinción nos permite visualizar de forma clara las fibras de colágeno tipo uno, que forman fibras gruesas o haces, y están diseñadas para dar resistencia.

Un solo patólogo investigador fue el que analizo todas las muestras, de forma que se mantuvo cegado en relación a los grupos que pertenecían cada una de las muestras (A1, A2, B1, B2, C1, C2). Los aumentos utilizados para el estudio histológico fueron de 4, 10,40 y 100 aumentos.

#### 4.9 VARIABLES A ESTUDIO

##### 1. Variables independientes:

- Malla de ácido poliglicólico.
- Malla de ácido poliglicólico con gel de Alginato cálcico al 4 %.
- Malla de ácido poliglicólico con gel de Alginato cálcico al 4 % y factores de crecimiento activados con CaCl<sub>2</sub>.

##### 2. Variables dependientes:

- Mortalidad
- Absceso
- Eventración
- Grado de adherencias (malla intraperitoneal)
- Peso
- Examen histológico: inflamación, vascularización, fibrosis y grado de hidrólisis de la malla.

##### 4.9.1 Variables: Definición

- Mortalidad: exitus en el postoperatorio (período comprendido desde la primera intervención hasta el sacrificio).
- Absceso: presencia de colección de contenido purulento sobre la malla, ya sea supraaponeurótica o intraperitoneal.

- **Eventración:** se define como herniación que ocurre en una zona que ha sido intervenida anteriormente. En este caso lo que tratamos de observar es la recurrencia de la hernia tras la intervención.
- **Grado de adherencias:** para ello utilizamos la clasificación de Knightly<sup>233</sup> (tabla 5). Medimos el grado de adherencias tras colocar la malla a nivel intraperitoneal y presencia de fístulas intestinales.

<b>Grado</b>	<b>Definición</b>
0	Sin adherencias.
1	Adherencia única, delgada, fácil de separar.
2	Adherencias débiles, poco numerosas.
3	Adherencias numerosas con extensiones parietales.
4	Adherencias numerosas en intestino, mesenterio, omento y pared abdominal.

Tabla 5. Grado de adherencias

- **Peso:** se midió el peso de las ratas antes de cada intervención (3 pesadas durante la duración del estudio) para dilucidar si influye en el estado general del animal la utilización de alginato y alginato y factores de crecimiento.
- **Examen histológico:** se realizó un estudio anatomopatológico sobre los parámetros inflamación, vascularización, fibrosis e hidrólisis de la malla a los 14 y 28 días, según procediera tras la aleatorización, puntuando como leve, moderado o severo según el porcentaje que presentara del mismo (tabla 6).

<b>ESTUDIO HISTOLÓGICO DEL PSEUDOTUMOR</b>
<b>Infiltrado de células inflamatorias (NEUTRÓFILOS):</b>
1 punto: Leve (<25%)
2 puntos: Moderado (25-75%)
3 puntos: Severo (> 75%)
<b>Infiltrado de células inflamatorias (CÉLULAS GIGANTES):</b>
1 punto: Leve (<25%)
2 puntos: Moderado (25-75%)
3 puntos: Severo (> 75%)
<b>Actividad fibroblástica</b>
1 punto: Leve (<25%)
2 puntos: Moderado (25-75%)
3 puntos: Severo (> 75%)
<b>Depósito de colágeno</b>
1 punto: Leve (<25%)
2 puntos: Moderado (25-75%)
3 puntos: Severo (> 75%)
<b>Neovascularización</b>
1 punto: Leve (<25%)

2 puntos: Moderado (25-75%)
3 puntos: Severo (> 75%)
<b>ESTUDIO DE LA MALLA</b>
<b>Grado de hidrólisis (degradación)</b>
1 punto: Leve (<25%)
2 puntos: Moderado (25-75%)
3 puntos: Severo (> 75%)
<b>Adherencias</b>
0: sin adherencias.
1: alguna adherencia aislada.
2: adherencias que engloban aproximadamente la mitad de la superficie de la prótesis.
3: muchas adherencias que engloban toda o casi toda la prótesis (más de la mitad).
4: presencia de fistulas entéricas

Tabla 6.Examen histológico. Parámetros.

#### 4.10 MODELO ESTADÍSTICO

- Para las variables cualitativas se utilizaron frecuencias absolutas y relativas, aplicando un análisis descriptivo.
- Para las variables cuantitativas, dependiendo si seguían o no una distribución Normal (Shapiro-Wilk,  $n < 50$ ), se resumieron mediante media y desviación estándar ( $M \pm DS$ ) y rango (mínimo, máximo) o  $P_{50}$  [ $P_{25-75}$ ] (mediana, rango intercuartílico) respectivamente.
- Para las variables cualitativas se trató de establecer diferencias estadísticamente significativas mediante el test de Chi-Cuadrado de Pearson o F de Fisher, según procediera.
- Para las variables cuantitativas utilizamos el test ANOVA y pruebas posthoc o H de Kruskall-Wallis y U de Mann-Whitney, aplicando la corrección de Bonferroni (alpha/número posible de comparaciones).
- Se estableció como valor estadísticamente significativo una  $p < 0,05$ .
- Se utilizó el paquete IBM® SPSS® Statistics 19 para el análisis estadístico.

## 5. RESULTADOS

Para conseguir alcanzar el número estimado (N=50), 65 ratas fueron intervenidas

El **peso medio** de las cincuenta ratas que entraron en el estudio fue de 239,70 (195-348) gramos; siendo el peso medio por grupos de:

- Grupo Control: 240,20 (196-284) gramos
- Grupo Alginato: 246, 20 (195-348) gramos
- Grupo Alginato-Factores 232,70 (194-317) gramos

Tras la primera intervención (eventración), el peso pasó a ser de:

- Grupo Control: 230,85 (189-285) gramos
- Grupo Alginato: 234,85 (185-342) gramos
- Grupo Alginato-Factores 225,35 (180-310) gramos

Finalmente, el peso resultante previo al sacrificio, una vez colocadas las mallas fue de:

- Grupo Control: 229,10 (180-285) gramos
- Grupo Alginato: 235,75 (185-304) gramos
- Grupo Alginato-Factores 227,90 (178-301) gramos

No se aprecia, por tanto, una pérdida ponderal significativa tras la colocación de la malla, observándose incluso ganancia en los grupos Alginato y Alginato-Factores.

Se anotó el peso de las mallas recortadas, tamaño 2 x 2 cm, que se utilizaron en cada rata, tanto intraperitoneal como supraaponeurótica; así como la cantidad de alginato añadida a las mismas en los grupos Alginato y Alginato-Factores.

- En las mallas colocadas a nivel intraperitoneal, el peso medio fue de 0,0488 gramos (mediana: 0,0480; mínimo: 0,044; máximo: 0,050). Al añadir alginato en los grupos Alginato y Alginato-Factores el peso medio fue de 0,1703 gramos (mediana: 0,1450; mínimo: 0,011; máximo: 0,024).
- En las mallas colocadas a nivel supraaponeurótico, el peso medio fue de 0,0486 gramos (mediana: 0,0480; mínimo: 0,045; máximo: 0,053). Al añadir alginato

en los grupos Alginato y Alginato-Factores el peso medio fue de 0,1675 gramos (mediana: 0,1440; mínimo: 0,11; máximo: 0,24).

## 5.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD Y MORBILIDAD: ABSCESOS Y FÍSTULAS

Del total de las 50 ratas incluidas en el estudio y que fueron sometidas a eventroplastia (tanto intraperitoneal como supraaponeurótica), no se evidenció eventración alguna en ninguna de ellas.

### 5.1.1 Mortalidad

Se constataron un total de 15 exitus durante el estudio realizado.

En el período de creación del defecto de pared, se constataron 11 muertes debido a una autólisis de las ratas al morder los puntos de seda con los que se cerró la piel, produciéndose una evisceración mortal.

Durante el acto anestésico previo a la colocación de la malla en el defecto de pared provocado 7 días antes, se produjeron 4 muertes por sobredosis del agente anestésico.

No se constató ningún exitus tras colocación de la malla, por lo que estos no estarían relacionados con la toxicidad de los elementos agregados a la misma.

### 5.1.2 Morbilidad

#### a) Abscesos y necrosis

Se realizó un estudio sobre los abscesos y focos de necrosis presentados tras la colocación de la malla. Los abscesos se dividieron entre abscesos macroscópicos y microscópicos.

En el absceso a nivel microscópico se observa acúmulo de neutrófilos. En la necrosis, existe destrucción tisular. Se aprecian células del tejido degeneradas, detritus celulares,



depósitos de fibrina y células inflamatorias. En algunos casos también se pueden ver calcificaciones (calcificación distrófica).

### **Malla intraperitoneal:**

A nivel macroscópico de la malla intraperitoneal, 39 ratas (78%) no presentaron absceso, mientras sí lo hicieron el resto (11 ratas, 22%). De esas 11 ratas, 1 (2%) correspondía al grupo Control y 10 (20%) a los grupos Alginato y Alginato-Factores.

Desde el punto de vista microscópico, en las mallas colocadas intraperitonealmente encontramos abscesos en 24 sujetos (48%), correspondiendo 6 (12%) al grupo Control y 18 (36%) a los grupos Alginato y Alginato-Factores. No presentaron absceso 26 (52%) de ellas.

Con respecto a la necrosis encontrada, todas fueron halladas en los grupos Alginato y Alginato-Factores siendo un total de 16 (32%).

### **Malla supraaponeurótica:**

Respecto a la malla supraaponeurótica, 43 ratas (86%) no presentaron absceso, el cual estaba presente en 7 ratas (14%) de las cuales 2 (4%) pertenecían al grupo Control y 5 (10%) de los grupos Alginato y Alginato-Factores.

En el estudio microscópico encontramos abscesos en 23 (46%) de las ratas, siendo 5 (10%) pertenecientes al grupo Control y 18 (36%) a los grupos Alginato y Alginato-Factores. No se encontró absceso en 27 (54%) de ellas.

Por último, presentaron microscópicamente necrosis un total de 11 (22%) ratas, todas correspondientes a los grupos Alginato y Alginato-Factores.

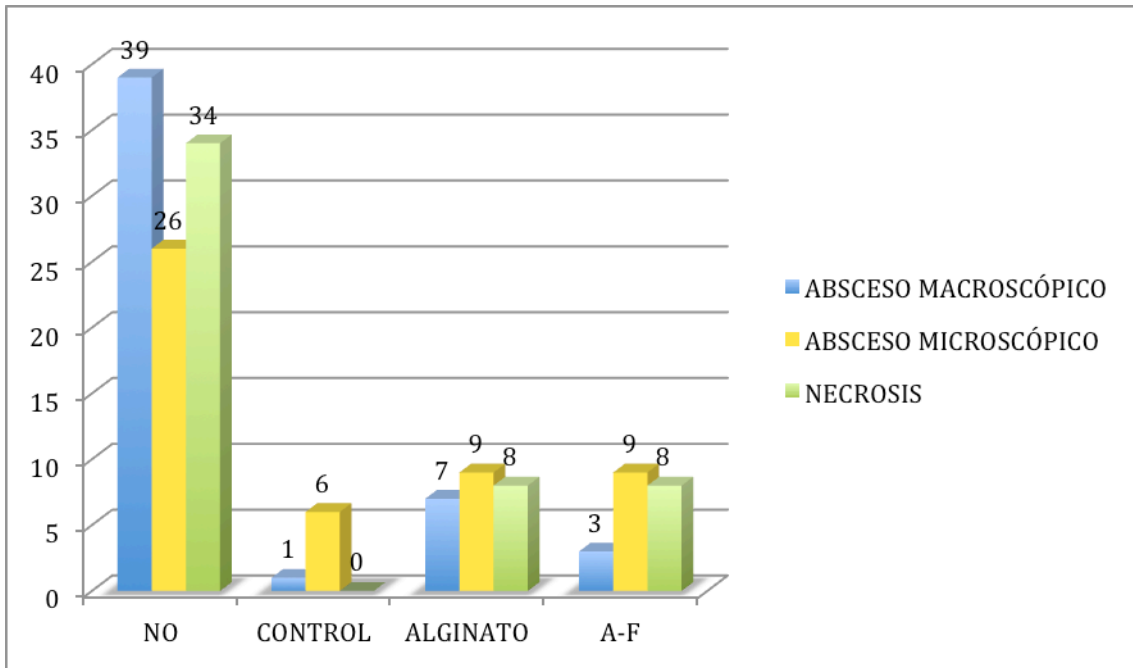


Ilustración 36. Gráfico comparativo de abscesos macro y microscópicos y necrosis en mallas de colocación intraperitoneal

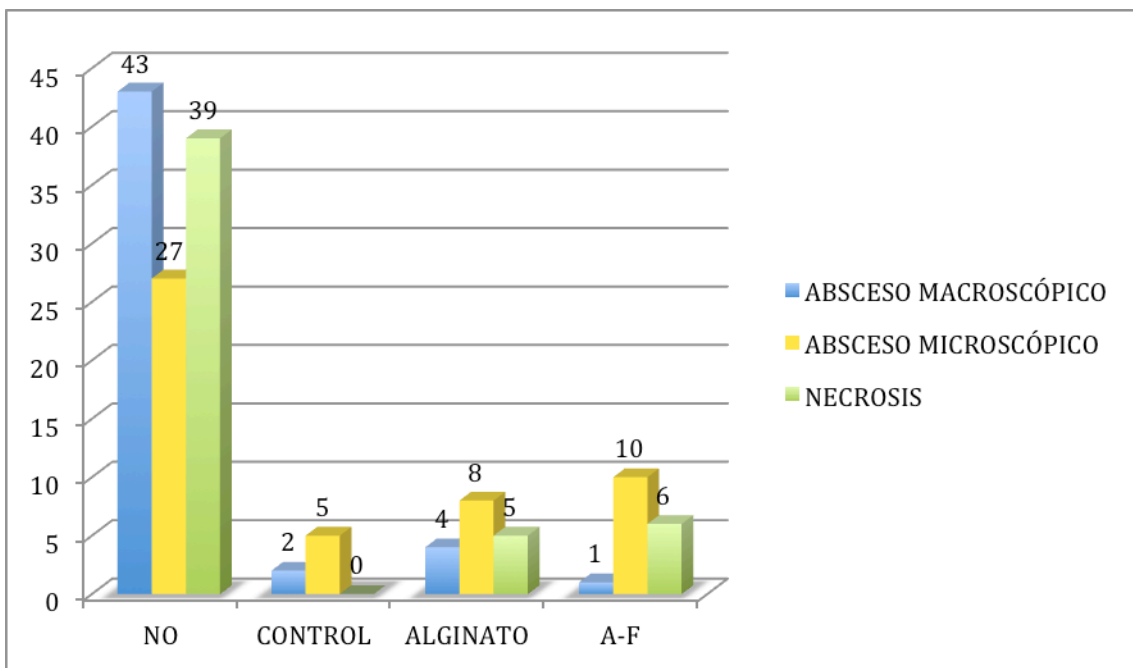


Ilustración 37. Gráfico comparativo de abscesos macro y microscópicos y necrosis en mallas de colocación supraaponeurótica

b) Adherencias/Fístulas

El análisis de las adherencias fue realizada en el grupo de mallas colocadas intraperitonealmente. Para ellos utilizamos la clasificación de Knightly<sup>194</sup> ya mencionada al final del capítulo anterior. En todas las ratas detectamos adherencias de tipo 4 (adherencias firmes a epiplón mayor). Incluso, se detectaron una adherencia a bazo y una adherencia a colon descendente con fístula presente tras la colocación de prótesis intraperitoneal.

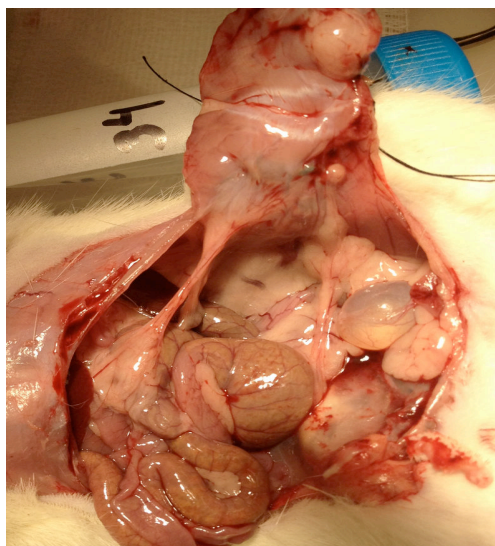


Ilustración 368. Adherencias de epiplón mayor a malla en rata de grupo Control sacrificada a los 14 días

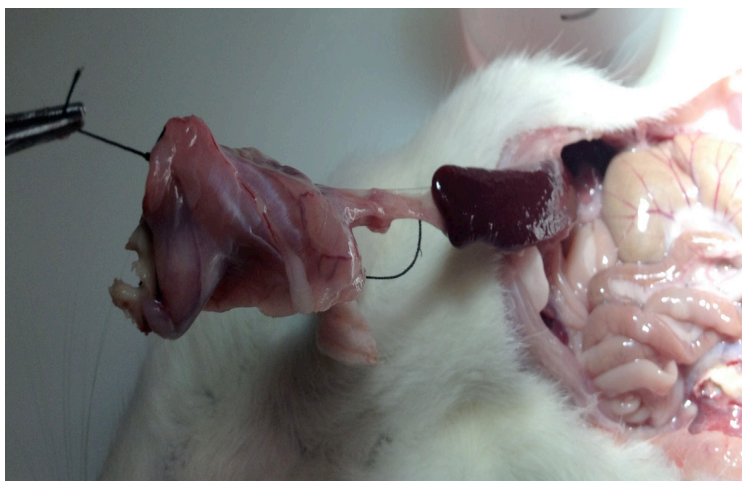


Ilustración 39. Adherencias firmes presentes a bazo en rata del grupo Alginato-Factores sacrificada a los 14 días



Ilustración 40. Adherencias con fistula en rata perteneciente al grupo Alginato sacrificada a los 14 días

## 5.2 EVALUACIÓN DE LA REPARACIÓN DE LA PARED ABDOMINAL

### a) Evaluación macroscópica.

Una vez transcurridos los 14 ó 28 días, según correspondiese el grupo, se procedió al sacrificio de las ratas, observándose a nivel macroscópico la malla ambos defectos herniarios realizados previamente sin presentar recidiva herniaria ninguno de ellos.

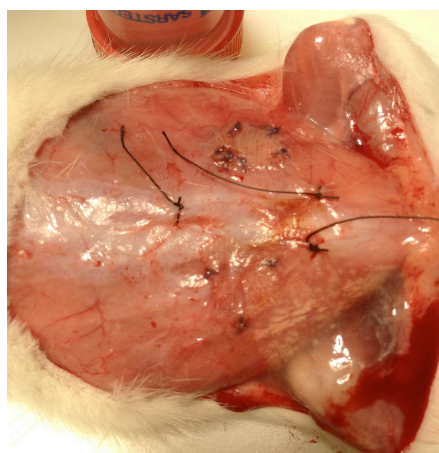


Ilustración 41. Rata grupo Alginato-Factores con sacrificio a los 28 días

### b) Evaluación microscópica.

A nivel microscópico se estudiaron las variables ya mencionadas en el capítulo anterior, de tal forma que se clasificaron en:

- 1- Inflamación: mediante el estudio del infiltrado presente de neutrófilos y células gigantes.
- 2- Vascularización.
- 3- Fibrosis: mediante el estudio de los depósitos de colágeno y la actividad fibroblástica.
- 4- Hidrólisis de la malla.

Todas las biopsias corresponden a músculo esquelético y tejido fibroadiposo (partes blandas), observándose en algunos casos fragmentos de glándulamamaria, de pared intestinal o ganglios linfáticos.

En la mayoría de los casos hemos observado un proceso inflamatorio agudo (abscesos de polimorfonucleares neutrófilos), crónico (infiltrados de linfocitos y células plasmáticas) y granulomatoso (reacción granulomatosa de tipo cuerpo extraño con presencia de células gigantes multinucleadas que fagocitan cuerpos extraños y células histiocitarias).

También se han podido observar cuerpos extraños exógenos de tres tipos: hilo de sutura (utilizada para fijación de la malla a la pared abdominal, apreciándose al microscopio numerosas fibras que originan una intensa reacción inflamatoria aguda y granulomatosa), restos de malla (material amorfo ante el cual el organismo de la rata responde con inflamación, generalmente crónica aunque también aguda y granulomatosa, y con fibrosis) y por últimos hemos observado restos vegetales y restos de algodón/gasa (con su correspondiente reacción granulomatosa y aguda asociadas). El hilo de sutura seguido de la malla son los que hemos podido observar con mayor frecuencia.

En muchos casos también hemos observado áreas de necrosis, identificando en algunas ratas microorganismo bacterianos (colonias de cocos) en el seno de dichas áreas. Muchos de estos focos de necrosis y abscesos podrían ser consecuencia de procesos infecciosos sobreañadidos. Estos serían causa de un retraso en la cicatrización (fibrosis).

Alrededor de la necrosis y los abscesos a veces se produce una fibrosis reactiva (pseudoencapsulación), que dificulta la evaluación del grado de fibrosis producido por la malla.

A la hora de valorar el grado de inflamación hemos tenido en cuenta los tres tipos de inflamación observada (aguda, crónica y granulomatosa). Como hemos dicho anteriormente, la inflamación se produce en torno al hilo de sutura, la malla, los restos vegetales y el algodón (estos dos últimos con mucha menor frecuencia), pero también la observamos sin tener relación con ellos. Resulta imposible distinguir la inflamación relacionada con el hilo de la producida por la malla, por lo que hemos realizado un gradación de la inflamación en conjunto.

En las siguientes imágenes imágenes se pueden observar los cortes más significativos como resultado del estudio:

1. **Malla intraperitoneal del grupo Alginato-Factores con sacrificio a los 28 días.** Marcada proliferación de fibroblastos con patrón fascicular, acompañada de proliferación vascular e infiltrado inflamatorio.

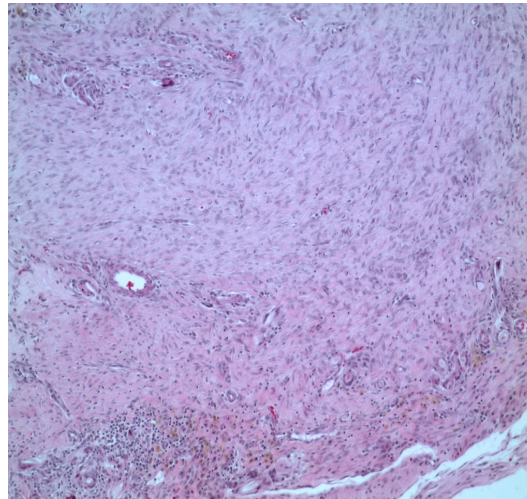


Ilustración 42. Fibrosis intensa. Tinción H/E 10x

2. **Malla supraaponeurótica del grupo Alginato-Factores con sacrificio a los 14 días.** Marcada proliferación de fibroblastos con patrón fascicular y numerosos neovasos acompañantes.



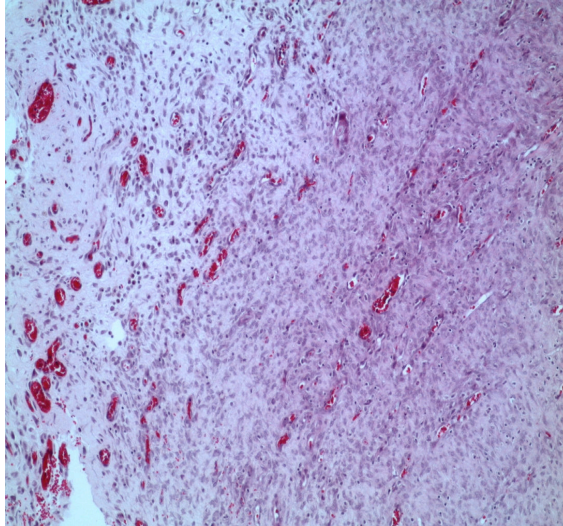


Ilustración 43. Fibrosis intensa. Tinción H/E 10x

3. **Malla intraperitoneal del grupo Alginato-Factores con sacrificio a los 28 días.** Presencia de abundante material amorfo grisáceo (malla) con intenso infiltrado inflamatorio asociado.

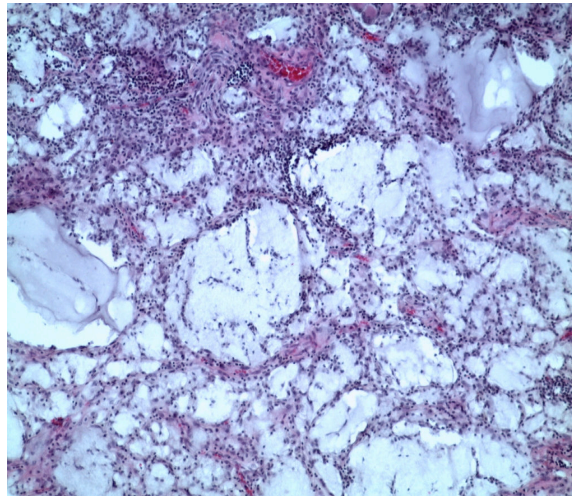


Ilustración 44. Mínima hidrólisis de la malla. Tinción H/E 10x

4. **Malla intraperitoneal del grupo Alginato-Factores con sacrificio a los 28 días.** A la derecha de la imagen se observan restos de malla con intenso infiltrado inflamatorio acompañante y a la izquierda vamos un acúmulo de polimorfonucleares neutrófilos rodeados de histiocitos (absceso).

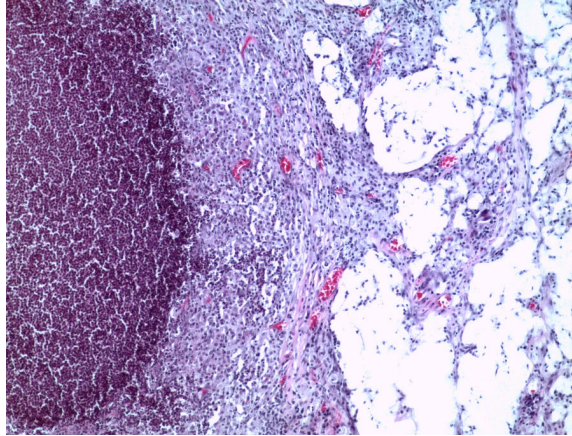


Ilustración 45 Inflamación intensa con formación de abscesos. Tinción H/E 10x

5. **Malla supraaponeurótica del grupo Alginato-Factores con sacrificio a los 14 días.** Marcada proliferación de fibroblastos y fibras de colágeno (azul).

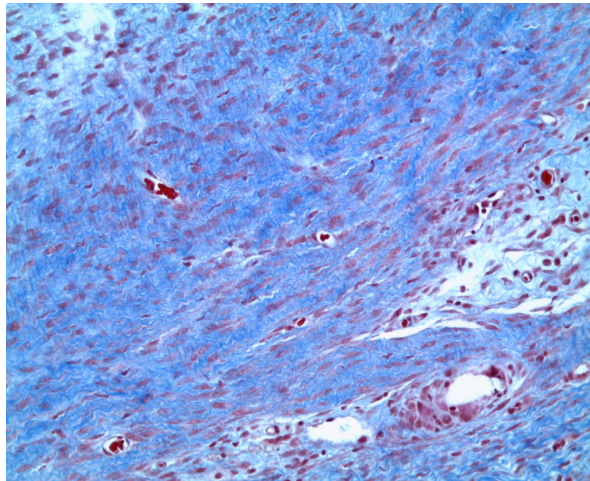


Ilustración 46. Fibrosis intensa. Tricómico de Masson 20x

6. **Malla supraaponeurótica del grupo Alginato-Factores con sacrificio a los 14 días.** Marcada proliferación de fibroblastos.



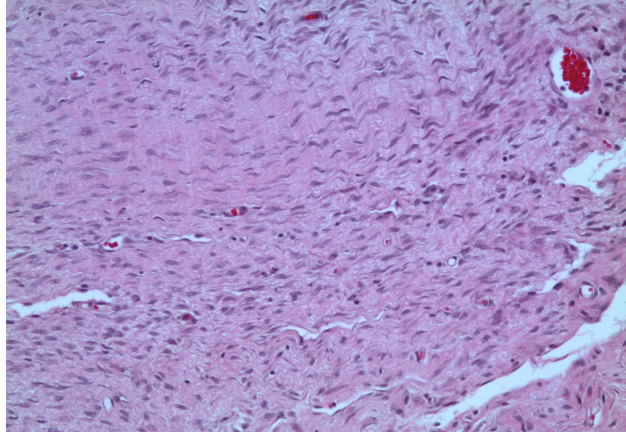


Ilustración 47. Fibrosis intensa. Tinción H/E 20x

7. **Malla supraaponeurótica del grupo Alginato con sacrificio a los 28 días.** Área con células degeneradas, detritus celulares, neutrófilos y depósitos de fibrina (necrosis).

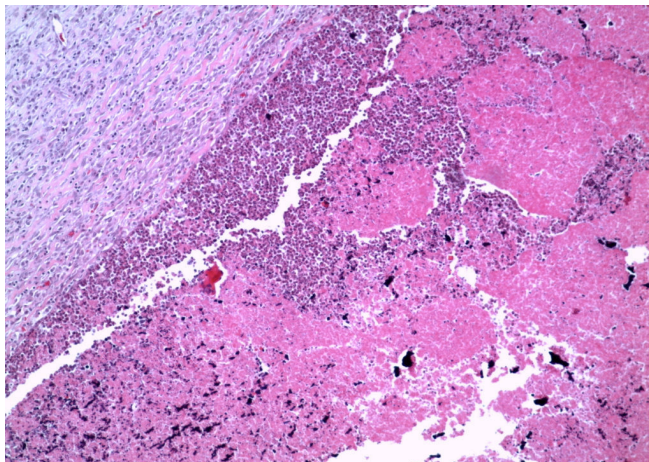


Ilustración 48. Focos de necrosis. Tinción H/E 10x

8. **Malla intraperitoneal del grupo Alginato con sacrificio a los 28 días.** Se observan tres pequeños abscesos de contornos irregulares formados por acúmulos de neutrófilos rodeados de histiocitos.

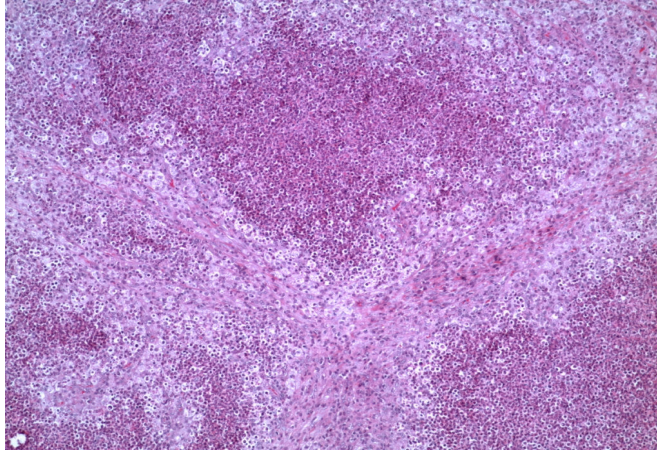


Ilustración 49. Inflamación intensa con formación de abscesos. Tinción H/E 10x

9. **Malla intraperitoneal del grupo Alginato con sacrificio a los 28 días.**  
Proliferación de fibroblastos y fibras de colágeno.

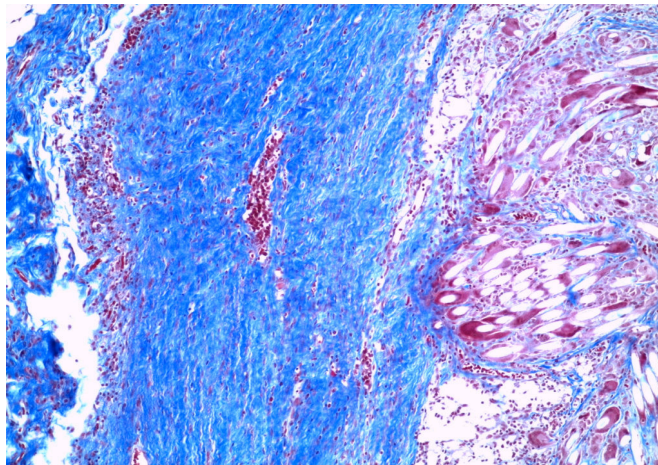


Ilustración 370. Fibrosis intensa. Tinción tricrómico de Masson 10x

10. **Malla intraperitoneal del grupo Alginato con sacrificio a los 28 días.** Misma muestra de la rata anterior (9) pero con tinción H/E.

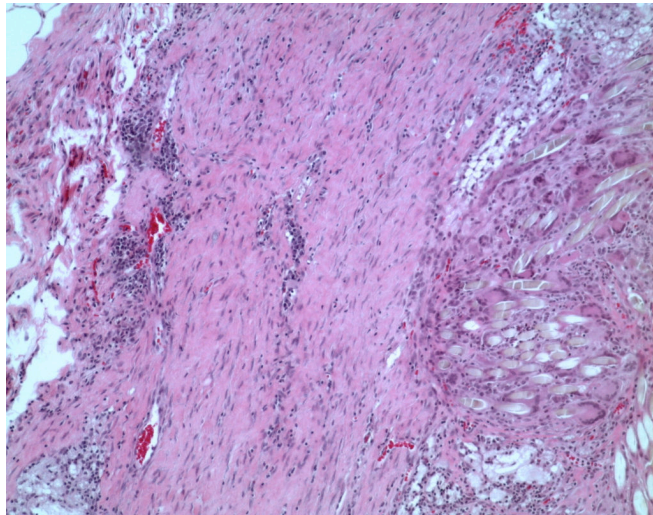


Ilustración 51. Fibrosis intensa. Tinción H/E 10x

### 5.3 ESTUDIO DESCRIPTIVO VARIABLES NO AGRUPADAS

#### 5.3.1 Inflamación

. - Malla intraperitoneal

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	INFLAMACIÓN INTRAPERITONEAL	LEVE	2	5	2	9
		MODERADA	3	5	5	13
		SEVERO	0	0	3	3
	Total		5	10	10	25
28 DIAS	INFLAMACIÓN INTRAPERITONEAL	LEVE	4	5	4	13
		MODERADA	1	2	4	7
		SEVERO	0	3	2	5
	Total		5	10	10	25
Total	INFLAMACIÓN INTRAPERITONEAL	LEVE	6	10	6	22
		MODERADA	4	7	9	20
		SEVERO	0	3	5	8
	Total		10	20	20	50

Tabla 7. Inflamación intraperitoneal.

Malla supraaponeurótica

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	INFLAMACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	1	2	5	8
		MODERADA	4	6	4	14
		SEVERO	0	2	1	3
	Total		5	10	10	25
28 DIAS	INFLAMACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	2	6	1	9
		MODERADA	3	4	5	12
		SEVERO	0	0	4	4
	Total		5	10	10	25
Total	INFLAMACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	3	8	6	17
		MODERADA	7	10	9	26
		SEVERO	0	2	5	7
	Total		10	20	20	50

Tabla 8. Inflamación supraaponeurótica.

5.3.2 Vascularización

Malla intraperitoneal

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	VASCULARIZACIÓN INTRAPERITONEAL	LEVE	0	3	3	6
		MODERADA	5	4	7	16
		SEVERO	0	3	0	3
	Total		5	10	10	25
28 DIAS	VASCULARIZACIÓN INTRAPERITONEAL	LEVE	4	2	3	9
		MODERADA	1	6	4	11
		SEVERO	0	2	3	5
	Total		5	10	10	25
Total	VASCULARIZACIÓN INTRAPERITONEAL	LEVE	4	5	6	15
		MODERADA	6	10	11	27
		SEVERO	0	5	3	8
	Total		10	20	20	50

Tabla 9. Vascularización intraperitoneal.



Malla supraaponeurótica

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	VASCULARIZACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	2	4	3	9
		MODERADA	3	5	5	13
		SEVERO	0	1	2	3
	Total		5	10	10	25
28 DIAS	VASCULARIZACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	4	6	3	13
		MODERADA	1	3	3	7
		SEVERO	0	1	4	5
	Total		5	10	10	25
Total	VASCULARIZACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	6	10	6	22
		MODERADA	4	8	8	20
		SEVERO	0	2	6	8
	Total		10	20	20	50

Tabla 10. Vascularización supraaponeurótica.

5.3.3 Fibrosis

Malla intraperitoneal

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	FIBROSIS INTRAPERITONEAL	LEVE	2	3	1	6
		MODERADA	2	5	8	15
		SEVERO	1	2	1	4
	Total		5	10	10	25
28 DIAS	FIBROSIS INTRAPERITONEAL	LEVE	2	2	4	8
		MODERADA	2	7	5	14
		SEVERO	1	1	1	3
	Total		5	10	10	25
Total	FIBROSIS INTRAPERITONEAL	LEVE	4	5	5	14
		MODERADA	4	12	13	29
		SEVERO	2	3	2	7
	Total		10	20	20	50

Tabla 11. Fibrosis intraperitoneal.

Malla supraaponeurótica

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	FIBROSIS SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	2	2	3	7
		MODERADA	3	5	5	13
		SEVERO	0	3	2	5
	Total		5	10	10	25
28 DIAS	FIBROSIS SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	2	5	3	10
		MODERADA	3	3	4	10
		SEVERO	0	2	3	5
	Total		5	10	10	25
Total	FIBROSIS SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	4	7	6	17
		MODERADA	6	8	9	23
		SEVERO	0	5	5	10
	Total		10	20	20	50

Tabla 12. Fibrosis supraaponeurótica.

5.3.4 Hidrólisis

Malla intraperitoneal

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	LEVE	0	5	1	6
		MODERADA	1	2	1	4
		SEVERO	4	3	8	15
	Total		5	10	10	25
28 DIAS	HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	LEVE	1	1	3	5
		MODERADA	0	3	2	5
		SEVERO	4	6	5	15
	Total		5	10	10	25
Total	HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	LEVE	1	6	4	11
		MODERADA	1	5	3	9
		SEVERO	8	9	13	30
	Total		10	20	20	50

Tabla 13. Hidrólisis intraperitoneal.

Malla supraaponeurótica

SACRIFICIO-DÍAS			GRUPO			Total
			CONTROL	ALGINATO	ALGINATO Y FACTORES	
14 DIAS	HIDRÓLISIS SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	0	3	2	5
		MODERADA	3	3	3	9
		SEVERO	2	4	5	11
	Total	5	10	10	25	
28 DIAS	HIDRÓLISIS SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	2	3	3	8
		MODERADA	1	3	2	6
		SEVERO	2	4	5	11
	Total	5	10	10	25	
Total	HIDRÓLISIS SUPRAAPONEURÓTICA	LEVE	2	6	5	13
		MODERADA	4	6	5	15
		SEVERO	4	8	10	22
	Total	10	20	20	50	

Tabla 14. Hidrólisis supraaponeurótica.

5.4 ESTUDIO INFERENCIAL VARIABLES NO AGRUPADAS

5.4.1 Estudio inferencial/Sacrificio a los 14 días

	Chi-cuadrado	gl	Sig. asintót.
INFLAMACIÓN INTRAPERITONEAL	3,970	2	,137
INFLAMACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	2,023	2	,364
VASCULARIZACIÓN INTRAPERITONEAL	1,395	2	,498
VASCULARIZACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	,689	2	,709
FIBROSIS INTRAPERITONEAL	,413	2	,813
FIBROSIS SUPRAAPONEURÓTICA	1,651	2	,438
HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	6,926	2	<b>,031*</b>
HIDRÓLISIS SUPRAAPONEURÓTICA	,444	2	,801

TABLA 15. Estudio inferencial en el grupo sacrificio 14 días. \* p<0,005

El análisis inferencial a los 14 días de todos los grupos de intervención detecta una diferencia estadísticamente significativa en el grupo de hidrólisis de la malla en la localización intraperitoneal con una p=0,031. (TABLA 15) Con el fin de ver en qué

grupo se produce hemos analizado dos a dos cada uno de ellos dentro del mismo grupo de tratamiento, mediante una Prueba de Mann-Whitney. De esta forma existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el de alginato, de manera que en las mallas de alginato intraperitoneales existe una menor hidrólisis de la malla a los 14 días que en el grupo control (P=0,047) TABLA 16

HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	GRUPO	N	Rango promedio	Suma de rangos
	CONTROL	5	11,00	55,00
	ALGINATO	10	6,50	65,00
	Total	15		

U de Mann-Whitney: 10,000  
W de Wilcoxon: 65,000  
Z  
Z: -1,984  
Sig. asintót. (bilateral): **0,047\***  
Sig. exacta [2\*(Sig. unilateral)]: 0,075

TABLA 16. Estudio inferencial grupo control y el de alginato. Grupo Sacrificio 14 días. \* p<0,005

También se han detectado diferencias estadísticamente significativas al comparar la hidrólisis en el grupo alginato frente al de alginato y factores, de manera que la hidrólisis de la malla aumenta la añadir factores de crecimiento (P=0,026). TABLA 17.

HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	GRUPO	N	Rango promedio	Suma de rangos
	ALGINATO	10	7,85	78,50
	A-F	10	13,15	131,50
	Total	20		

U de Mann-Whitney: 23,500  
W de Wilcoxon: 78,500  
Z: -2,232  
Sig. asintót. (bilateral): **0,026**  
Sig. exacta [2\*(Sig. unilateral)]: ,043

TABLA 17. Estudio inferencial grupo alginato y el de alginato con factores. Grupo Sacrificio 14 días. \* p<0,005

#### 5.4.2 Estudio inferencial/Sacrificio a los 28 días

El análisis inferencial a los 28 días de todos los grupos de intervención detecta una diferencia estadísticamente significativa en el grupo de inflamación de la malla en la localización supraaponeurótica con una p=0,016. Con el fin de ver en qué grupo se



produce, hemos analizado dos a dos cada uno de ellos dentro del mismo grupo de tratamiento, mediante una Prueba de Mann-Whitney. (TABLA 18)

	Chi-cuadrado	gl	Sig. asintót.
INFLAMACIÓN INTRAPERITONEAL	2,240	2	,326
INFLAMACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	8,243	2	<b>,016*</b>
VASCULARIZACIÓN INTRAPERITONEAL	4,826	2	,090
VASCULARIZACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	4,782	2	,092
FIBROSIS INTRAPERITONEAL	,571	2	,752
FIBROSIS SUPRAAPONEURÓTICA	1,107	2	,575
HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	1,080	2	,583
HIDRÓLISIS SUPRAAPONEURÓTICA	,184	2	,912

TABLA 18. Estudio inferencial en el grupo sacrificio 28 días. \* p<0,005

Con el fin de ver en qué grupo se produce hemos analizado dos a dos cada uno de ellos dentro del mismo grupo de tratamiento, mediante una Prueba de Mann-Whitney. De esta forma existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo alginato y el de alginato con factores, de manera que las mallas de alginato con factores existe un mayor proceso inflamatorio de la malla a los 28 días que en el grupo alginato sólo (P=0,007). (TABLA 19).

INFLAMACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	GRUPO	N	Rango promedio	Suma de rangos
	ALGINATO	10	7,20	72,00
	A-F	10	13,80	138,00
	Total	20		

U de Mann-Whitney: 17,000  
W de Wilcoxon: 72,000  
Z: -2,690  
Sig. asintót. (bilateral): **0,007\***  
Sig. exacta [2\*(Sig. unilateral)]: 0,011

TABLA 19. Estudio inferencial grupo alginato con alginato y factores. Grupo Sacrificio 28 días. \* p<0,005

#### 5.4.3 Estudio inferencial atendiendo grado de severidad

Sig. exacta (bilateral)	Estadístico exacto de Fisher		
	CONTROL	ALGINATO	A-F
INFLAMACIÓN INTRAPERITONEAL	0,524	1,000	,628
INFLAMACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	1,000	,170	,141
VASCULARIZACIÓN INTRAPERITONEAL	0,048	1,000	1,000
VASCULARIZACIÓN SUPRAAPONEURÓTICA	,524	,370	1,000
FIBROSIS INTRAPERITONEAL	1,000	1,000	,303
FIBROSIS SUPRAAPONEURÓTICA	1,000	,350	1,000
HIDRÓLISIS INTRAPERITONEAL	1,000	,152	,569
HIDRÓLISIS SUPRAAPONEURÓTICA	,167	1,000	1,000

Tabla 20. Estadístico de Fisher.

### GRUPO CONTROL

Se ha procedido a comparar si el **proceso inflamatorio** leve es superior al moderado-severo en la localización de la malla a nivel intraperitoneal, sin embargo no hemos encontrado diferencias significativas obteniendo una  $p=0,524$ , e igual ocurre con la localización de la malla a nivel supraaponeurótica en la obtenemos una  $p=1,000$ .

Cuando valoramos la **vascularización** encontramos una mayor vascularización desde el punto de vista estadístico en la localización supraaponeurótica ( $p= 0,048$ ), sin embargo no en la intraperitoneal ( $p=1,000$ ).

El grado de **fibrosis** en las mallas tanto en la localización intraperitoneal como en la supraaponeurótica es la misma, ambas con una  $p=1,000$ .

Por último tampoco hemos detectado una mayor grado de hidrólisis ni en la localización intraperitoneal ( $p=1,000$ ) ni en la supraaponeurótica ( $p=0,167$ ).

### GRUPO ALGINATO

Se ha procedido a comparar si el **proceso inflamatorio** leve es superior al moderado-severo en la localización de la malla a nivel intraperitoneal, sin embargo no hemos

encontrado diferencias significativas obteniendo una  $p=1,000$ , e igual ocurre con la localización de la malla a nivel supraaponeurótica en la obtenemos una  $p=0,170$ .

Cuando valoramos la **vascularización** no encontramos una mayor vascularización desde el punto de vista estadístico ni en la malla a nivel intraperitoneal ( $p=1,000$ ) ni en la supraaponeurótica ( $p=0,370$ ).

El grado de **fibrosis** en las mallas tanto en la localización intraperitoneal como en la supraaponeurótica es la misma,  $p=1,000$  y  $p=0,350$ ; respectivamente.

Por último, tampoco hemos detectado una mayor grado de hidrólisis ni en la localización intraperitoneal ( $p=0,152$ ) ni en la supraaponeurótica ( $p=1,000$ ).

## **GRUPO ALGINATO Y FACTORES**

Se ha procedido a comparar si el **proceso inflamatorio** leve es superior al moderado-severo en la localización de la malla a nivel intraperitoneal, sin embargo no hemos encontrado diferencias significativas obteniendo una  $p=0,628$ , e igual ocurre con la localización de la malla a nivel supraaponeurótica en la que obtenemos una  $p=0,141$ .

Cuando valoramos la **vascularización** no encontramos una mayor vascularización desde el punto de vista estadístico ni en la malla a nivel intraperitoneal ( $p=1,000$ ) ni en la supraaponeurótica ( $p=1,000$ ).

El grado de **fibrosis** en las mallas tanto en la localización intraperitoneal como en la supraaponeurótica es la misma,  $p=0,303$  y  $p=1,000$  respectivamente.

Por último tampoco hemos detectado una mayor grado de hidrólisis ni en la localización intraperitoneal ( $p=0,569$ ) ni en la supraaponeurótica ( $p=1,000$ ).

5.5 ESTUDIO DESCRIPTIVO E INFERENCIAL, TEST DE FISHER (A) Y TEST COMPARACION PROPORCIONES (B), POR GRUPOS DE INTERVENCIÓN DE FORMA INDEPENDIENTE DE LAS VARIABLES HISTOLÓGICAS CON SUS GRADOS DE SEVERIDAD AGRUPADOS (LEVE VS MODERADO-SEVERO)

Con el fin de realizar un análisis más profundo de las muestras, hemos procedido a agrupar los grupos de severidad moderada y severo en un único grupo, para compararlo con el leve. Con esta agrupación hemos podido hacer comparaciones 2 a 2. Para ello hemos realizado comparación de proporciones para muestras independientes, utilizando el programa epidemiológico EPIDAT versión 4.1 El método de inferencia en este caso permite construir un intervalo de confianza y realizar un contraste de hipótesis bajo el supuesto de que el estadístico de esta diferencia siga una distribución normal **Prueba de comparación de dos proporciones** Esta prueba se aplica en diseños de investigación en los que se estudia a dos grupos a quienes se ha medido una variable cualitativa. Esta variable cualitativa medida en ambos grupos se puede resumir en forma de proporciones. Disponemos por tanto de dos proporciones que pueden ser comparadas para averiguar si existe una diferencia estadísticamente significativa entre ellas. En la prueba se plantean las siguientes hipótesis estadísticas: Hipótesis estadística nula: **H<sub>0</sub>: P<sub>1</sub> = P<sub>2</sub>** Hipótesis estadística alterna: **H<sub>a</sub>: P<sub>1</sub> distinta de P<sub>2</sub>.**

### 5.5.1 Inflamación malla intraperitoneal

#### a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	p=1,000	P=0,430
			ALGINATO	5 (50 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60%)		P=0,714
			ALGINATO	5 (50%)		
	28	LEVE	CONTROL	4 (80%)	p=0,580	P=0.264
			ALGINATO	5 (50%)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	1 (20%)		P=0.264
			ALGINATO	5 (50%)		

Tabla 21. Inflamación malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO

b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40%)	p=0,560	P=0.409
			AF	2 (20%)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60%)		P=0.409
			AF	8 (80%)		
	28	LEVE	CONTROL	4 (80%)	p=1,000	P=0.143
			AF	4 (40%)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	1 (20%)		P=0.143
			AF	6 (60%)		

Tabla 22. Inflamación malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	5 (50%)	p=0,350	P=0.160
			AF	2 (20%)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	5 (50%)		P=0.164
			AF	8 (80%)		
	28	LEVE	ALGINATO	5 (50%)	p=0,350	P=0.653
			AF	4 (40%)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	5 (50%)		P=0.653
			AF	6 (60%)		

Tabla 23. Inflamación malla intraperitoneal ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la celularidad inflamatoria en malla colocadas a nivel intraperitoneal. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B). De manera que si comparamos los hallazgos con el grupo control o entre los grupos de intervención, el proceso inflamatorio encontrado es el mismo o prácticamente el mismo cuando colocamos la malla en situación intraperitoneal.

### 5.5.2 Inflamación malla supraaponeurótica

#### a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	1 (20 %)	p=1,000	P=1
			ALGINATO	2 (20 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	4 (80 %)		P=1
			ALGINATO	8 (80 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	p=1,000	P=0.464
			ALGINATO	6 (60 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.464
			ALGINATO	4 (40 %)		

Tabla 24. Inflamación malla supraaponeurótica CONTROL vs ALGINATO

#### b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	1 (20 %)	p=0,580	P=0.264
			AF	5 (50 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	4 (80 %)		P=0.264
			AF	5 (50 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	p=0,242	P=0.171
			AF	1 (10 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.171
			AF	9 (90 %)		

Tabla 25. Inflamación malla supraaponeurótica CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	2 (20 %)	p=0,350	P=0.160
			AF	5 (50 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	8 (80 %)		P=0.164
			AF	5 (50 %)		
	28	LEVE	ALGINATO	6 (60 %)	p=0,582	P=0.019
			AF	1 (10 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	4 (40 %)		P=0.019
			AF	9 (90 %)		

Tabla 26. Inflamación malla supraaponeurótica ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la celularidad inflamatoria en malla colocadas a nivel supraaponeurótica. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B), salvo cuando comparamos a los 28 días el proceso inflamatorio entre el grupo alginato con el de alginato y factores, siendo superior el proceso inflamatorio en este último.

5.5.3 Vascularización malla intraperitoneal

a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	0 (0 %)	p= 0,505	NO EXISTE
			ALGINATO	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	5 (100 %)		NO EXISTE
			ALGINATO	7 (70 %)		
	28	LEVE	CONTROL	4 (80 %)	p= 0,505	P=0.125
			ALGINATO	2 (20 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	1 (20 %)		P=0.025
			ALGINATO	8 (80 %)		

Tabla 27. Vascularización malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO

b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	0 (0 %)	p=0,505	NO EXISTE
			AF	3 (30 %)		NO EXISTE
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	5 (100 %)		NO EXISTE
			AF	7 (70 %)		NO EXISTE
	28	LEVE	CONTROL	4 (80 %)	p=0,472	P=0.067
			AF	3 (30 %)		P=0.067
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	1 (20 %)		P=0.067
			AF	7 (70 %)		P=0.067

Tabla 28. Vascularización malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	3 (30 %)	p=1,000	P=1
			AF	3 (30 %)		P=1
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	7 (70 %)		P=1
			AF	7 (70 %)		P=1
	28	LEVE	ALGINATO	2 (20 %)	p=1,000	P=0.606
			AF	3 (30 %)		P=0.606
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	8 (80 %)		P=0.606
			AF	7 (70 %)		P=0.606

Tabla 29. Vascularización malla intraperitoneal ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la vascularización en malla colocadas a nivel intraperitoneal. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B). De manera que si comparamos los hallazgos con el grupo control o entre los grupos de intervención, la vascularización encontrada es el mismo o practicamente el mismo cuando colocamos la malla en situación intraperitoneal. Cabe destacar que aunque no se ha conseguido significacion estadístico si existe una tendencia a que la vascularización.



### 5.5.4 Vascularización malla supraaoneurótica

#### a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=1,000	P=1
			ALGINATO	4 (40 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.526
			ALGINATO	6 (60 %)		
	28	LEVE	CONTROL	4 (80 %)	P=1,000	P=0.439
			ALGINATO	6 (60 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	1 (20 %)		P=0.058
			ALGINATO	4 (40 %)		

Tabla 30. Vascularización malla supraaoneurótica CONTROL vs ALGINATO

#### b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=1,000	P=0.699
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.699
			AF	7 (70 %)		
	28	LEVE	CONTROL	4 (80 %)	P=1,000	P=0.067
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	1 (20 %)		P=0.067
			AF	7 (70 %)		

Tabla 31. Vascularización malla supraaoneurótica CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

#### c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	4 (40 %)	P=1,000	P=0.639
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	6 (60 %)		P=0.639
			AF	7 (70 %)		
	28	LEVE	ALGINATO	6 (60 %)	P=1,000	P=0.178
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	4 (40 %)		P=0.178
			AF	7 (70 %)		

Tabla 32. Vascularización malla supraaoneurótica ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la vascularización en malla colocadas a nivel supraaponeurótica. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B). De manera que si comparamos los hallazgos con el grupo control o entre los grupos de intervención, la vascularización encontrada es el mismo o practicamente el mismo cuando colocamos la malla en situación supraaponeurótica. Cabe destacar que aunque no se ha conseguido significacion estadístico si existe una tendencia a que la vascularización a los 28 días en el grupo de alginato y factores parece ser superior a los otros grupos de intervención.

#### 5.5.5 Fibrosis malla intraperitoneal

##### a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=1,000	P=0.699
			ALGINATO	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.699
			ALGINATO	7 (70 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=0.560	P=0.409
			ALGINATO	2 (20 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.409
			ALGINATO	8 (80 %)		

Tabla 33. Fibrosis malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO

b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=0,242	P=0.171
			AF	1 (10 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.168
			AF	9 (90 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=1,000	P=1
			AF	4 (40 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=1
			AF	6 (60 %)		

Tabla 34. Fibrosis malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	3 (30 %)	P=0,582	P=1
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	7 (70 %)		P=1
			AF	7 (70 %)		
	28	LEVE	ALGINATO	3 (30 %)	P=1,000	P=0.264
			AF	1 (10 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	7 (70 %)		P=0.264
			AF	9 (90 %)		

Tabla 35. Fibrosis malla intraperitoneal ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la fibrosis de la malla colocadas a nivel intraperitoneal. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B). De manera que si comparamos los hallazgos con el grupo control o entre los grupos de intervención, la fibrosis encontrada es el mismo o prácticamente el mismo cuando colocamos la malla en situación intraperitoneal.

### 5.5.6 Fibrosis malla supraaoneurótica

#### a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=0,560	P=0.409
			ALGINATO	2 (20 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.409
			ALGINATO	8 (80 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=1,000	P=0.430
			ALGINATO	5 (50 %)		
MODERADO-SEVERO		CONTROL	3 (60 %)	P=0.714		
		ALGINATO	5 (50 %)			

Tabla 36. Fibrosis malla supraaoneurótica CONTROL vs ALGINATO

#### b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=1,000	P=0.699
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.699
			AF	7 (70 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=1,000	P=0.699
			AF	3 (30 %)		
MODERADO-SEVERO		CONTROL	3 (60 %)	P=0.699		
		AF	7 (70 %)			

Tabla 37. Fibrosis malla supraaoneurótica CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

#### c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	2 (20 %)	P=1,000	P=0.606
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	8 (80 %)		P=0.606
			AF	7 (70 %)		
	28	LEVE	ALGINATO	5 (50 %)	P=0,250	P=0.361
			AF	3 (30 %)		
MODERADO-SEVERO		ALGINATO	5 (50 %)	P=0.361		
		AF	7 (70 %)			

Tabla 38. Fibrosis malla supraaoneurótica ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la fibrosis de la malla colocadas a nivel supraaponeurótica. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B). De manera que si comparamos los hallazgos con el grupo control o entre los grupos de intervención, la fibrosis encontrada es el mismo o practicamente el mismo cuando colocamos la malla en situación supraaponeurótica.

### 5.5.7 Hidrólisis malla intraperitoneal

#### a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	0 (0 %)	P=0,101	NO EXISTE
			ALGINATO	5 (50 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	5 (100%)		NO EXISTE
			ALGINATO	5 (50 %)		
	28	LEVE	CONTROL	1 (20 %)	P=0,050	P=0.591
			ALGINATO	1 (10 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	4 (80 %)		P=0.591
			ALGINATO	9 (90 %)		

Tabla 39. Hidrólisis malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO

#### b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	0 (0 %)	P=1,000	NO EXISTE
			AF	1 (10 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	5 (100 %)		NO EXISTE
			AF	9 (90 %)		
	28	LEVE	CONTROL	1 (20 %)	P=0,225	P=0.680
			AF	3 (30%)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	4 (80 %)		P=0.680
			AF	7 (70 %)		

Tabla 40. Hidrólisis malla intraperitoneal CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	5 (50 %)	P=0,141	P=0.051
			AF	1 (10 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	5 (50 %)		P=0.051
			AF	9 (90%)		
	28	LEVE	ALGINATO	1 (10 %)	P=0.582	P=0.264
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	9 (90 %)		P=0.264
			AF	7 (70 %)		

Tabla 41. Hidrólisis malla intraperitoneal ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la hidrólisis de la malla colocadas a nivel intraperitoneal. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), sólo hemos encontrado diferencias significativas en el grupo comparativo control frente alginato a favor de una mayor hidrólisis de la malla en presencia de alginato a los 28 días, pero no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los otros grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B).

5.5.8 Hidrólisis malla supraaponeurótica

a) Grupo control VS alginato

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO</b>	14	LEVE	CONTROL	0 (0 %)	P=0,505	NO EXISTE
			ALGINATO	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	5 (100 %)		NO EXISTE
			ALGINATO	7 (70 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=0,530	P=0.699
			ALGINATO	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.699
			ALGINATO	7 (70 %)		

Tabla 42. Hidrólisis malla supraaponeurótica CONTROL vs ALGINATO

b) Grupo control VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>CONTROL VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	CONTROL	0 (0 %)	P=0,524	NO EXISTE
			AF	2 (20 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	5 (100 %)		NO EXISTE
			AF	8 (80 %)		
	28	LEVE	CONTROL	2 (40 %)	P=0,360	P=0.699
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	CONTROL	3 (60 %)		P=0.699
			AF	7 (70 %)		

Tabla 43. Hidrólisis malla supraaponeurótica CONTROL vs ALGINATO-FACTORES

c) Grupo alginato VS alginato-factores (AF)

	Días Sacrificio	Grupo	Grupo intervención	n/ Proporción	A	B
<b>ALGINATO VS ALGINATO-FACTORES</b>	14	LEVE	ALGINATO	3 (30 %)	P=1,000	P=0.606
			AF	2 (20 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	7 (70 %)		P=1
			AF	8 (80 %)		
	28	LEVE	ALGINATO	3 (30 %)	P=1,000	P=1
			AF	3 (30 %)		
		MODERADO-SEVERO	ALGINATO	7 (70 %)		P=1
			AF	7 (70 %)		

Tabla 44. Hidrólisis malla supraaponeurótica ALGINATO vs ALGINATO-FACTORES

En esta tabla observamos los hallazgos en el estudio microscópico cuando valoramos la hidrólisis de la malla colocadas a nivel supraaponeurótica. Se ha agrupado las moderadas con las severas y se compara con las leves. Se puede ver el número de ratas y entre paréntesis el porcentaje que corresponde.

En el estudio inferencial 2 a 2 en la que se ha realizado un Test de Fisher (A), no hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de intervención, ni tampoco al aplicar un estudio de comparación de proporciones (B). De manera que si comparamos los hallazgos con el grupo control o entre los grupos de intervención, la hidrólisis encontrada es el mismo o prácticamente el mismo cuando colocamos la malla en situación supraaponeurótica.

## 6.DISCUSIÓN

Los defectos de pared continúan siendo hoy día una de las asignaturas pendientes y que se pretende optimizar al máximo mejorando el tratamiento y disminuyendo tanto la morbilidad (dolor agudo, dolor crónico, infecciones de la prótesis, adherencias intraperitoneales...) como la recidiva.

La cirugía de la pared abdominal es precisamente una de las que con mayor frecuencia se realizan en un Servicio de Cirugía General. Se estima que los paciente intervenidos por patología herniaria varía entre un 10 a un 30%<sup>235</sup>, lo cual conlleva un alto coste socioeconómico<sup>236-7</sup> debido a los materiales prótesicos utilizados y las nuevas tecnologías utilizadas para reparar dicha patología, además del absentismo laboral posterior a la cirugía.

Del mismo modo, la eventración se presenta como una frecuente complicación dentro de la cirugía abdominal, lo cual conlleva una alta tasa de morbilidad.

La incidencia varía en la literatura dependiendo del autor, pero se acepta una tasa de eventración entre el 2 y el 11-13 % en pacientes que han sido sometidos a cirugía abdominal. Otros autores, como Bellón Caneiro<sup>238</sup>, hablan de incidencias que alcanzan el 16 % e incluso del 18 %, como apunta Hoer et al<sup>239</sup>. En una serie de 500 pacientes y con un seguimiento medio de 12 meses, Calvo y cols<sup>240</sup> anotó una incidencias de eventraciones del 22 %. Hasta un 26 % presentó Israelsson<sup>241</sup> en una serie de 1.000 pacientes.

No obstante, muy probablemente la incidencia real sea diferente ya que existen eventraciones con un curso evolutivo subclínico que no presentan sintomatología o que la presentan de forma larvada, por lo que no serán examinadas y, en consecuencia, no serán detectadas. En otros casos se diagnosticará de forma incidental mediante una exploración clínica o radiológica. Caso aparte son las hernias paraostomales, las cuales aumentan su incidencia cuando a la exploración clínica se asocia un estudio radiológico mediante TAC).

De cualquier manera, las eventraciones aparecen en su mayoría en el primer año tras la cirugía, aunque algunos autores señalan que ocurre en los tres primeros meses.

Tras la reparación mediante eventroplastia, Israelsson et al<sup>242</sup> presentó en su serie una incidencia del 17 %: 29,1 % eran eventraciones recidivadas que se habían reparado mediante sutura simple; 19,3% tras colocación de malla supraaponeurótica y 7,3 % al reparar mediante malla colocada infraaponeurótica. Sauerland et al<sup>243</sup> marca la incidencia de la eventración tras la reparación en un 11 %, similar a la anterior.

La prótesis utilizada es nuestro modelo de experimentación es una malla mixta composite a la que se han añadido alginato como biomaterial y factores de crecimiento. De esta manera, buscamos una prótesis compatible biológicamente y que se integre lo más rápido posible tras su implantación, siendo reabsorbible de manera que no provoque rechazo crónico ya que sería hidrolizada. Como condición hemos buscado el valorar la fibrosis generada previa a la hidrólisis de la malla, de manera que se genere



en la zona reparada un tejido con la suficiente fuerza tensil para que mantenga cerrado el defecto de pared de forma definitiva.

El material elegido para dicha malla es el ácido poliglicólico, el cual es ampliamente utilizado en cirugía torácica<sup>244-7</sup>, digestiva<sup>248-9</sup> y ginecológica<sup>250-2</sup> como refuerzo de tejidos débiles. En estas cirugías se generan adherencias que pueden causar en ocasiones obstrucción intestinal, dolor crónico, malestar abdominal, infertilidad femenina<sup>244-5,249,250-1,253-4</sup> y dificultad en las posteriores cirugías sobre el mismo campo, así como prolongados ingresos y reingresos que conllevan un impacto en el bienestar y en los costes sanitarios de los pacientes<sup>254-5</sup>. Durante la degradación no enzimática del ácido poliglicólico se produce una acidez leve<sup>256</sup> que causa inflamación crónica y, posteriormente, se producen adherencias alrededor del lugar en el que se colocó la malla<sup>244,257</sup>.

Como andamio tridimensional existen varios estudios que utilizan el alginato, favoreciendo así la regeneración de los tejidos. Este hidrogel es capaz de retener gran cantidad de agua y mantiene su integridad y estructura durante el proceso de inflamación, la cual minimiza.

Nuestro grupo de investigación, en base a estudios publicados previamente sobre andamios porosos hechos de alginato modificado e implantados en el dorso del animal de experimentación en los que estos presentaron una respuesta inmune y encapsulación mínima con una correcta incorporación celular, realizó una serie de estudios previos que manifestaron la tolerancia del alginato tras implantarlo en la rata, sin apreciar efectos adversos en la misma.

Además, el alginato de sodio ya se ha utilizado anteriormente para la prevención de adherencias<sup>258-9,260</sup>, motivo por el cual se colocó en contacto con las asas (malla intraperitoneal), para comprobar dicho efecto antiadherente. A su vez, los factores de crecimiento se han utilizado en múltiples estudios comprobándose que facilitan la proliferación de diferentes tipos de células. La naturaleza mitogénica y angiogénica de los factores permite estimular la remodelación de los tejidos, así como la neovascularización. El mayor problema que presentan es que al tratarse de cadenas simples de glicoproteínas presentan inestabilidades físicas y químicas, por lo que un procesamiento excesivo puede causar los factores pierdan eficacia y bioactividad.

Se ha utilizado un animal de experimentación para llevar a cabo el estudio planteado, el cual surge de la necesidad de encontrar la prótesis para la reparación de la hernia o eventración que consiga minimizar las complicaciones derivadas de su colocación y de mejorar los resultados; simulando para ello un modelo quirúrgico equivalente.

Como ya señalamos en el capítulo “material y métodos”, la rata utilizada pertenece a la variedad Wistar, ya que cumple con los requisitos necesarios en la investigación biomédica por su fácil manejo, capacidad de adaptación y a su rapidez a la hora de reproducirse.

Anatómica e histológicamente, presenta características similares al ser humano, por lo que es adecuado como modelo para dicho estudio.

En otros estudios similares respecto a la reparación de pared abdominal se han utilizado ejemplares similares, tal y como el que publicó Deng et al <sup>261</sup> en 2016 a las que realizó un defecto de pared de 2 x 3 cm para colocar la malla posteriormente. En nuestro estudio el defecto fue de 1,5 x 1,5 cm ya que en el mismo animal se realizaron dos defectos para colocar las mallas a nivel supraaponeurótico e intraabdominal. Matoba et al <sup>262</sup> realizaron un estudio sobre adherencias y alginato de calcio precisamente en ratas Wistar.

La referencia tomada para el sacrificio fue a los 14 y 28 días para el sacrificio tras la colocación de la prótesis, ya que a los 14 días prácticamente disminuye la fuerza tensil a la mitad, siendo a los 28 días menor al 30 %.

Se comprobó la integración de la malla (inflamación, vascularización) y la aparición del tejido de cicatrización (fibrosis) antes de la desaparición de la fuerza tensil y de la prótesis (hidrólisis), comparando si existen diferencias estadísticamente significativas entre la colocación de la malla de ácido poliglicólico y de la malla de ácido poliglicólico añadiendo alginato cálcico con o sin factores de crecimiento.

Tras la colocación de la malla se forma una cantidad de tejido fibrótico (cicatriz) que no se puede controlar (dependiente del receptor). Esta fibrosis provocará una retracción de la malla entre el 40-60 % produciendo tensión y la posibilidad de formación de meshomas, que no es más que un plegamiento anómalo de la malla con posterior formación de un granuloma. Este granuloma es el responsable en muchas ocasiones de dolor neuropático por atrapamiento de nervios. En la siguiente figura observamos un meshoma en una de las ratas.



Ilustración 52. Meshoma

Apreciamos meshomas en tres de las ratas, de las cuales una pertenecía al grupo control dos de ellas al grupo alginato (una con sacrificio a los 14 días y otra a los 28 días).

El estudio anatomopatológico es un estudio a doble ciego en las que las muestras de tejido obtenidas para el estudio se fijaron en formol tamponado y fueron procesadas en

el laboratorio de anatomía patológica inclusión en bloques de parafina, corte histológico con micrótopo y tinción con técnicas de hematoxilina/eosina y tricrómico de Masson), evaluando en los cortes histológicos los parámetros ya mencionados en el capítulo “material y métodos” (tabla 6: estudio histológico del pseudotumor y estudio de la malla). La tinción con hematoxilina/eosina nos permite hacer la valoración de los cuatro parámetros, visualizando la celularidad inflamatoria (linfocitos, células plasmáticas, histiocitos, neutrófilos y células gigantes multinucleadas de tipo cuerpo extraño), la fibrosis producida por la malla (constituida por fibroblastos y fibras de colágeno), la vascularización asociada y la presencia o no de malla y otros materiales exógenos como el hilo de sutura. El tricrómico de Masson nos ayudó a evaluar el grado de fibrosis, ya que tiñen de azul intenso las fibras de colágeno. A cada parámetro se le asignó un grado de intensidad: leve o moderada-severa, y se consideró como positiva una respuesta celular mayor del 25 %.

Realizando una búsqueda exhaustiva en la bibliografía aparecen estudios comparables al realizado y sobre los materiales utilizados en el campo de la Cirugía. En 2006, Ceonzo et <sup>263</sup> al publicaron un estudio sobre la inflamación generada por el ácido poliglicólico. La producción de mediadores inflamatorios (como la IL-1 $\alpha$ ) tras la implantación del ácido poliglólico va a degradar e impedir la producción de matriz extracelular y, por tanto, la función del tejido implantado<sup>264-5</sup>. El sistema inmune innato es el sistema de defensa primordial, y parte del mismo es el sistema del complemento que consta de una cascada de más de treinta proteínas diferentes y que pueden ser activadas por tres vías diferentes (clásica, alternativa y lectina). La activación de C5 conduce a la activación de C5a y C5b-9, que son las principales moléculas inflamatorias de la activación del complemento y, por tanto, responsables de la inflamación y el daño tisular ya probado en otros estudios clínicos<sup>266-70</sup>. El ácido poliglicólico es degradado por hidrólisis a ácido glicólico y a continuación se dimeriza en glicolida, incorporándose al ciclo de Krebs y excretándose vía renal<sup>271-3</sup>.

Para dicho estudio, se utilizaron ratones con el sistema inmune modificado, de manera que cada grupo tenía déficit de distintas proteínas de la cascada del complemento (“salvajes”, C1 q $\alpha$ , C2, C1q, C6 deficiente). A dichos ratones se les inyectó intraperitonealmente 1 ml de ácido poliglicólico disuelto en suero salino a 4° C durante tres días; a los ratones control se les inyectó 1 ml de suero salino estéril. Tras el sacrificio, se realizó un lavado de la cavidad peritoneal con 5 ml de sigma PBS y se recogió como muestra el estudio. Los leucocitos se marcaron con 0,2 % de azul de tripano y se utilizó con hemocitrómetro para el conteo, además de preparar láminas que se tiñeron con Wright Giemsa, realizando un recuento diferencial de leucocitos.

*In vitro*, al analizar los resultados vieron que el ácido poliglicólico en sí no activa el sistema del complemento, al contrario que el ácido poliglicólico degradado que sí lo activa. Llegaron a esta conclusión puesto que en presencia de ácido poliglicólico degradado había un aumento de la biosíntesis de C5a y de C3a. Además, para la activación del complemento es primordial la unión de las inmunoglobulinas y se observó un aumento significativo de unión de IgG e IgM al ácido poliglicólico degradado. El ácido poliglicólico se hidroliza en glicolida y ésta también activó el sistema del complemento.

*In vivo*, se observó un aumento de neutrófilos en la cavidad peritoneal tras la administración de ácido poliglicólico degradado o de glicolida al comparar los ratones modificados con el grupo control. En los ratones con déficit de C1q (en los que se encuentran suprimidas las vías clásica y alternativa) no se producía peritonitis tras la inyección, lo que sugiere que las vías clásica y alternativa se activan con el ácido poliglicólico degradado, no ocurriendo así con la vía de la lectina.

De este estudio se concluye que el ácido poliglicólico, al igual que otros materiales utilizados en bioingeniería, conducen a una respuesta inflamatoria que puede tener efectos sobre la supervivencia celular y la función del tejido. Así, el ácido poliglicólico no activa el sistema del complemento, al contrario que ocurre con el ácido poliglicólico degradado o la glicolida.

En 2015, Matoba et al estudiaron la prevención de adherencias peritoneales inducidas por el ácido poliglicólico mediante el uso de alginato en un modelo animal, de forma que las mallas fueron colocadas intraperitonealmente. En este estudio utilizaron una malla de ácido poliglicólico de 15 x 15 mm esterilizada, cola de fibrina, polvo de alginato y una solución de gluconato cálcico a una concentración el 8,5 %. Ya en otro estudio previo, Hirasaki et al<sup>274</sup> recomendaba el uso de alginato en gel ya que al aplicarlo en polvo puede provocar reacción a cuerpo extraño, al dispersarse por la cavidad abdominal.

Realizaron un *cross-linking* de alginato con gluconato cálcico, disponiendo de tres soluciones según la riqueza del gluconato (1 ml de gluconato a la que denominaron “rica”, 0,1 ml de gluconato a la que denominaron “pobre” y la tercera sin gluconato). La solución rica creaba un entrecruzamiento fuerte en el que el alginato se convierte en un gel insoluble<sup>275-6</sup> que hace que se adhiera fuertemente a la malla, no dispersándose por la cavidad abdominal. La solución pobre presenta un entrecruzamiento débil y el gel es suave<sup>277</sup>, disolviéndose y dispersándose lentamente por la cavidad abdominal. En la solución sin gluconato el alginato no se entrecruza y se convierte en un gel suave<sup>277-8</sup> que se separa fácilmente de la malla y se dispersa por la cavidad abdominal.

El experimento constaba de dos partes: en la primera se utilizaron 40 ratas Wistar que se dividieron en cinco grupos de ocho ratas cada uno. En el primer grupo se colocó la malla de ácido poliglicólico, en el segundo la malla recubierta de cola de fibrina, en el tercero la malla recubierta de la solución rica, en el cuarto con la solución pobre y en el quinto y último con la malla recubierta de gel de alginato sin gluconato. La dosis de alginato era fija (250 mg por rata). En el segundo experimento se utilizaron 60 ratas. Se dividieron en dos grupos de 30 ratas, de tal manera que a un grupo se colocaba la malla con alginato y un entrecruzamiento pobre y el otro grupo con el entrecruzamiento nulo (sin gluconato). Estos dos grupos se dividieron a su vez en 5 subgrupos cada uno, de manera que se iba aumentando la cantidad de alginato agregada a la malla (10 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg y 160 mg). En ambos experimentos se realizó el sacrificio a los 56 días.

Se llevó a cabo una evaluación macroscópica a doble ciego, puntuando según una clasificación para las adherencias según extensión y severidad. También evaluaron la

ascitis y su relación con la cantidad de alginato añadida. Se realizó un estudio microscópico mediante tinción de hematoxilina-eosina y un estudio inmunohistoquímico, utilizando para el marcaje de células mesoteliales anticuerpos HBME-1 y anticuerpos anti-rat (CD68, CD163, CD86) para marcaje de macrófagos. Con los anticuerpos anti CD68 y anti CD86 se diferencian los macrófagos M1 y M2b (inflamatorios), mientras que con los anticuerpos anti CD163 de los M2a y M2c (que se encargan de la remodelación de los tejidos)<sup>279,280</sup>. Tras una lesión intraperitoneal o inflamación, si el daño es reparado con células mesoteliales<sup>281-2</sup>, no se formaría la fusión de los tejidos (adherencias).

Como resultado en el primer experimento observaron macroscópicamente que la malla con cola de fibrina y alginato rico en gluconato presentaban menos adherencias que la malla de ácido poliglicólico sola, sin embargo mostraron más adherencias que las mallas a las que se agregó alginato pobre en gluconato y alginato sin gluconato cálcico. En el segundo experimento apreciaron un menor grado de adherencias a medida que aumentaba la dosis de alginato. Respecto a la ascitis, el grado de adherencias fue directamente proporcional al grado de ascitis, por lo que a mayor cantidad de alginato menos adherencias y ascitis.

Mediante la tinción hematoxilina-eosina observaron en ambos experimentos que en los tres grupos de alginato la concentración de linfocitos, fibroblastos y fibrosis fueron menores que en los grupos en los que se había colocado la malla de ácido poliglicólico sola o con cola de fibrina.

Con el estudio inmunohistoquímico observaron que la capa de células mesoteliales estaba claramente formada en las ratas a las que se colocó la malla con alginato sin gluconato o pobremente enriquecidas con gluconato, a diferencia de la formada en los grupos cola de fibrina y fuertemente enriquecido con gluconato. Con el marcaje con anticuerpos se observó que a medida que la concentración de calcio disminuía se apreciaba una mayor concentración de macrófagos M2 y M2c, con una menor detección de macrófagos inflamatorios M1 y M2b; por lo que el análisis del fenotipo de los macrófagos mostró que el grupo con la malla con alginato y sin gluconato tenía el mayor perfil de remodelación y que la malla con alginato y fuertemente enriquecida con gluconato mostraba el perfil mayor de inflamación de los tres tipos de tratamiento a base de alginato.

Así demostraron en este estudio que el alginato, incluso a bajas dosis, ejerce un fuerte efecto antiadhesivo, siempre y cuando la cantidad de gluconato cálcico sea pobre o ninguna. No se consideró que la ascitis provocada fuera inflamatoria. Además, Aksoy et al<sup>35</sup> mostraron previamente en un estudio que la existencia de líquido en el interior del abdomen tiene un efecto preventivo contra la adhesión postoperatoria, causada por lesión peritoneal en un experimento en modelo animal con ratas. Por tanto, la ascitis detectada en este estudio podría haber contribuido a efectos antiadherentes. Además, el riesgo de infección del alginato es menor que el que presenta la cola de fibrina<sup>278,283</sup>, ya que el alginato se extrae de algas marinas y la cola de fibrina de sangre humana.

Como conclusión a este estudio podemos extraer que los materiales compuestos con

alginato de sodio sin gluconato cálcico o pobremente enriquecidos con gluconato cálcico impiden las adherencias producidas por el ácido poliglólico.

En el estudio mencionado anteriormente realizado por Deng et al <sup>261</sup> y publicado en 2016 sobre el cierre temporal del abdomen abierto (utilizado para el síndrome compartimental, sepsis intraabdominal, politraumatizados y defectos de la pared abdominal) con malla de polipropileno recubierto de un hidrogel, en este caso el chitosán. Es sabido que la malla de polipropileno proporcionaría a la fascia fuerza para evitar la retracción abdominal pero la exposición directa de la malla con las asas intestinales puede provocar inflamación aguda y crónica, dolor abdominal crónico e inducir la formación de fístulas intestinales<sup>284</sup>.

Para este estudio se cubrió una malla de polipropileno con un hidrogel compuesto a base de chitosán, gelatina y genipina, que mejoraban las características físico-químicas del chitosán. Se utilizaron 24 ratas macho de la línea Sprague-Dawley a las que se realizó un defecto de pared de 2x 3 cm, eliminando el espesor total de la pared para colocar así en contacto directo con las asas la malla de polipropileno. Se dividió en dos grupos de 12 ratas cada uno, colocando malla de polipropileno desnuda en el primero y con el hidrogel en el segundo.

Se realizó el sacrificio a los 7 y 14 días, recogiendo como muestras las asas intestinales subyacentes a la malla y también las que se encontraban alejadas como muestra para el control. Utilizaron para el estudio microscópico las tinciones de hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson, tinción con CD31 para marcaje inmunohistoquímico de las células endoteliales, microscopía electrónica y análisis qPCR para detectar cuantitativamente la expresión de factores de crecimiento.

Los factores PDGF, bFGF y TGF- $\beta$  son quimiotácticos para los fibroblastos<sup>285</sup> (regulan positivamente para la quimiotaxis de los fibroblastos). Bajo la estimulación de estos factores de crecimiento, los fibroblastos son reclutados para la formación de tejido de granulación. VEGF y bFGF son las citoquinas más importantes para la angiogénesis<sup>286</sup>, estimulando el efecto proangiogénico y promoviendo la cicatrización de la herida. Estudios previos han mostrado que las citoquinas VEGF y bFGF inducen efectos proangiogénicos en cultivos de células endoteliales<sup>287</sup>. La aplicación en pacientes diabéticos, en los que la reparación es anormal y disfuncional, de VEGF promovió la curación<sup>37</sup>. En el proceso de formación de tejido de granulación, los fibroblastos pueden diferenciarse en miofibroblastos bajo la estimulación de los macrófagos<sup>288</sup>. Los miofibroblastos, como células contráctiles, pueden hacer que se aproximen los bordes de la herida con el tiempo. Tanto los fibroblastos como los miofibroblastos producen sinérgicamente la matriz extracelular en la que el colágeno es la forma principal (la base)<sup>289</sup>.

Al analizar los resultados comprobaron que la malla con hidrogel presentó una disposición de colágeno ordenada y homogénea con una leve inflamación, mientras que la malla sin hidrogel mostró un espesor no homogéneo e inflamación severa. Al teñir con hematoxilina-eosina se apreció un mayor acúmulo celular y un mayor depósito de matriz extracelular en la malla con hidrogel, presentando dicha malla un espesor

relativo de tejido de granulación de 1,7 veces respecto a la malla desnuda, junto con un mayor número de vasos (por lo que el hidrogel favorecería la angiogénesis), una estructura más compacta (mayor depósito de fibras de colágeno con una disposición más ordenada) y un mayor número de miofibroblastos.

Con el análisis qPCR se observó que en la malla desnuda hubo mayor liberación de citoquinas proinflamatorias (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-12). En cambio, en la malla con hidrogel se secretaron mayormente la IL-10, IL-1, VEGF, Ang-1 y vWF, que son antiinflamatorias. Los factores tróficos (bFGF, TGF- $\beta$ , PDGF, CTGF, MCP-1 y MMP-2) aumentaron en la malla con hidrogel, los cuales inducen el reclutamiento de fibroblastos para la rápida formación de tejido de granulación.

Para los hidrogeles el tamaño del poro y la conectividad de los mismos son esenciales para las diferentes aplicaciones en la bioingeniería de tejidos. Las conexiones de los poros son indispensables para permitir un aporte eficiente de nutrientes y de oxígeno para las células sembradas en el hidrogel<sup>290-1</sup>. Además, los materiales macroporosos mejoran la supervivencia de las células encapsuladas<sup>292</sup>. En este estudio, la malla con hidrogel facilitó la neoformación de vasos y tejido, mostrando homogeneidad en la disposición celular y del colágeno. Además, regula los factores de la inflamación disminuyendo los proinflamatorios y aumentando los antiinflamatorios al igual que los factores de la cicatrización. Estos resultados muestran que el revestimiento con hidrogel minimiza el efecto de los daños de los materiales, aunque al tratarse de un estudio preliminar que se centra en la etapa temprana de la cicatrización habrían que evaluarse los efectos posteriores (como la función del órgano y las complicaciones asociadas).

Respecto a estudios sobre mallas y factores de crecimiento, en 2016 Zhang et al<sup>293</sup> realizaron un estudio en el que utilizaron mallas de polipropileno a la que agregaron factores de crecimiento. Los factores de crecimiento, al tratarse de una cadena simple de glicoproteínas, presenta inestabilidades físicas y químicas, por lo que un procesamiento excesivo puede causar que pierdan eficacia y bioactividad. Se han propuesto diversos vehículos para la administración de factores pero a mayor manipulación y complejidad, menor bioactividad. Debido a la hidrofobicidad de la malla de polipropileno está limitada la adhesión celular a la misma, o cual genera reacción a cuerpo extraño con gran cantidad de tejido fibroso (cicatrizal). El factor de crecimiento fibroblástico promueve el crecimiento y la diferenciación de un amplio espectro celular y ha demostrado capacidad para acelerar la cicatrización de heridas<sup>294-5</sup>. Por tanto, la hipótesis de este estudio es que la adición de factores de crecimiento a la malla de polipropileno ha de mejorar la biocompatibilidad sin provocar ningún efecto perjudicial sobre sus propiedades mecánicas. Se añadió a la malla polidopamina para aprovechar así sus características antiadherentes, la cual se obtiene tras la polimerización de la dopamina por oxidación en medio básico (Ph: 8,5).

Sumergieron las mallas de polipropileno en polidopamina durante doce horas y luego se enjuagaron cinco veces con agua desionizada para eliminar los restos que no se hubieran unido. Después se sumergieron otras doce horas en una solución rica en factores de crecimiento, enjuagándolas cinco igualmente para eliminar restos. Se realizaron estudios *in vitro* y estudios *in vivo* en animales de experimentación.

Se utilizaron 18 conejos de la raza Nueva Zelanda que se dividieron en tres grupos: malla de polipropileno, malla de polipropileno con polidopamina y malla de polipropileno con polidopamina con factores de crecimiento. En cada conejo se realizaron ocho defectos de pared de 4 x 1 cm y se administraron una dosis diaria de 20 mg/kg/día de cefalexina durante tres días. El sacrificio se realizó al mes, dos meses y tres meses. Tiñeron las muestras con hematoxilina-eosina y con tricrómico de Masson, realizando seis secciones en cada muestra. Mediante un medidor de tensión se realizaron pruebas con las muestras obtenidas (análisis biomecánico) a una velocidad de 5 mm/minuto hasta la rotura de la pieza.

Al analizar los resultados la morfología se mantuvo en los tres tipos de mallas, lo cual sugiere que al añadir polidopamina y los factores de crecimiento no provocan un cambio en la estructura del polipropileno. Macroscópicamente mostraba una mayor rugosidad la superficie de las mallas con polidopamina y polidopamina y factores que las mallas desnudas, que presentaron una superficie más lisa.

Respecto al estudio *in vitro*, tras tres y cinco días de cultivo se encontraron fibroblastos adheridos más fácilmente en las mallas modificadas, posiblemente debido a la mayor hidrofobicidad que presentaban. El número de fibroblastos en la mala con factores aumentó significativamente en comparación con las otras dos mallas. La proliferación celular al quinto día en la malla con factores fue tres veces más alta que en la malla desnuda. Estos datos sugieren que la malla con polidopamina y factores apoyan la adhesión celular óptima y la proliferación.

*In vivo*, no se apreció inflamación ni infección en el tejido regenerado de los animales de experimentación. Mediante microscopía electrónica se apreciaron células gigantes multinucleadas en la malla desnuda, indicando respuesta inflamatoria. En el implante con factores se observó a los tres meses una cápsula externa formada por colágeno denso y fibroblastos maduros. Se comparó la expresión de los haces de colágeno en las tres mallas y fue en la malla con factores en la que se encontró mayor densidad de colágeno, siendo en la malla con factores 1,5 veces mayor que en la malla desnuda.

Al realizar el examen histológico, en el primer mes la malla con factores mostró una mayor adhesión celular alrededor de su periferia, destacando así una mayor biocompatibilidad respecto a los otras dos mallas. En el segundo mes se observó un mayor grado de organización del colágeno en las mallas con polidopamina y con polidopamina y factores, mientras que en la malla desnuda mostraba una disposición desorganizada del colágeno. En el tercer mes el injerto fue sustituido por tejido moderadamente organizado (colágeno, tejido adiposo, haces de músculo liso). La malla con factores presentaba bandas de tejido conectivo fibroso mezclado con pequeños haces de músculo liso, sin presencia de macrófagos. Estos resultados sugieren mejor resistencia a la tracción de la pared abdominal regenerada. Con la tinción de tricrómico de Masson, la densidad de las fibras de colágeno y celular parecían ser significativamente mayor en las modificadas que en la malla desnuda.

En el estudio biomecánico la malla con factores demostró mayor resistencia mecánica (mayor elongación de rotura) respecto a las otras dos. La resistencia mecánica pudo ser



debida a la rápida regeneración de la fascia sumado a la proliferación acelerada de fibroblastos y colágeno depositado gracias a la actividad de los factores de crecimiento.

Tras valorar los resultados obtenidos, concluyeron que la polidopamina favoreció la adhesión celular mientras que los factores el crecimiento y proliferación celular. En la etapa tardía del estudio (a los tres meses), a lo largo de la remodelación de los tejidos la malla con factores fue capaz de mantener una estructura fibrosa estable y no indujo la degradación de las fibras. El mayor grado de organización del colágeno depositado en la malla con factores a los tres meses de la implantación se podría atribuir a la liberación de metaloproteinasas de la matriz (MMPs) y otras enzimas proteolíticas que degradan la matriz (tales como la colagenasa, elastasa e hialuronidasa) secretadas por el fenotipo M2. Tal fenotipo es quien probablemente promueve la integración del biomaterial y la curación, mejorando la regeneración de los tejidos. Los resultados en este estudio confirman que las mallas con factores mejoran la biocompatibilidad y las propiedades mecánicas en comparación con la malla desnuda. La malla con factores mostró a los tres meses de la implantación propiedades mecánicas mejoradas, un mayor depósito de colágeno más organizado y una menor inflamación, optimizando así la malla de polipropileno.

En nuestro modelo experimental se ha tratado, como ya hemos mencionado anteriormente, la posibilidad de fabricar una prótesis para reparación de pared abdominal que proporcionara una mejor resistencia a la tracción de la zona regenerada en el menor tiempo posible y sin la posibilidad de provocar reacción crónica a cuerpo extraño, ya que dicho material se reabsorbería por completo, dejando un tejido lo más homogéneo y organizado posible en la cicatriz.

Como hemos visto en estudios experimentales previos, existe disparidad a la hora de realizar el sacrificio del animal para examinar posteriormente los resultados. En nuestro caso, como ya hemos mencionado anteriormente, tomamos como referencia la disminución de la fuerza tensil de la malla de ácido poliglicólico, ya que sin esta se presentaría una recidiva precoz.

Respecto a la **mortalidad** en nuestra serie, 15 ratas fueron exitus de un total de 65 (ya que la N deseada era de 50). 11 de estas muertes se presentaron tras seccionar las ratas los puntos de cierre de pared abdominal y siendo exitus por evisceración. Las 4 ratas restantes sufrieron una sobredosis de agente anestésico, por lo que fueron exitus antes de ser colocada la malla. Con esto concluimos que las mallas colocadas no son nocivas para dichos animales, ya que no presentaron toxicidad ninguna de las ratas.

Continuando con la morbilidad, los **abscesos** presentados los dividimos según las mallas estuvieran en contacto con la cavidad peritoneal o no.

Con las mallas colocadas intraperitonealmente presentaron absceso macroscópico un 22 %, de los cuales un 2 % pertenecía al grupo control mientras que el grupo alginato y el grupo alginato-factores sumaban en total un 20 %. Microscópicamente, el 48 % de las ratas presentaron absceso siendo un 12 % correspondiente al grupo control y un 36 % a la suma de los grupos alginato y alginato-factores. Podemos concluir que a nivel

intraperitoneal las mallas composite no aumentaron de forma significativa el número de abscesos.

En las mallas colocadas supraaponeuróticas macroscópicamente presentaron absceso un 14 % de los cuales el 4 % pertenecía al grupo control y el 10 % a los grupos alginato y alginato-factores. Microscópicamente, se apreció absceso en un 46 % de las ratas, siendo un 10 % del grupo control y un 36 % del grupo alginato y alginato-factores. Igualmente, podemos concluir que a nivel supraaponeurótico las mallas composite no aumentaron de forma significativa el número de abscesos.

No se apreció **necrosis** a nivel microscópico en el grupo control tanto en la malla intraperitoneal como en la supraaponeurótica. En cambio, sí la presentaron un 32 % de las ratas de los grupos alginato y alginato-factores a nivel intraperitoneal y un 22 % a nivel supraaponeurótico. Por lo tanto aumenta la necrosis a nivel de la malla tras añadir tanto alginato como alginato y factores de crecimiento.

Todas las ratas presentaron adherencias tipo 4 (según clasificación de Knightly<sup>194</sup>), incluso una fístula intestinal (colon) en la malla colocada intraperitonealmente, por lo que concluimos que la malla composite no mejora los resultados previos al estudio.

La inflamación presentada debería ser leve con alto grado de reabsorción de la prótesis, a la vez que presentara una mayor densidad en colágeno y fibroblastos con alto grado de organización de los mismos y homogeneidad, junto con angiogénesis aumentada. A su vez, la malla situada intraperitonealmente no debería presentar adherencia alguna a los distintos órganos intraabdominales.

Tras analizar los datos, no obtuvimos dicha diferencia entre la malla control y las mallas con alginato y alginato con factores de crecimiento.

Estos resultados pueden deberse a varios factores, tras compararlos previamente con los estudios ya mencionados en este capítulo.

Primeramente, la cantidad de gluconato cálcico añadida al alginato no ha sido la apropiada probablemente. Parece ser que a mayores concentraciones de gluconato cálcico se genera una mayor respuesta inflamatoria con el hidrogel configurado, provocando así efectos nocivos sobre la reparación del tejido sobre el que estamos trabajando. Por tanto, se debería disminuir dicha concentración para obtener los resultados deseados inicialmente.

El procesamiento de los factores de crecimiento (a mayor procesamiento, menor eficacia y bioactividad). Lo ideal sería obtener los factores de crecimiento y añadirlos a la prótesis con alginato en el mismo acto. Sin embargo, para poder hacer factible dicho estudio se realizó la extracción de los factores procediendo a congelarlos para posterior uso. Dicho proceso podría haber alterado las propiedades de los mismos, no obteniendo los resultados deseados inicialmente.

En nuestro caso no precisábamos de un elemento como vehículo para agregar el alginato a la prótesis de ácido poliglicólico, tal y como ocurre en aquellos estudios en

los que la prótesis es de polipropileno ya que éste, al contrario que el utilizado en nuestro estudio, es hidrofóbico.

El no utilizar antibióticos podría preoperatorios y postoperatorios como profilaxis podría haber sido un elemento en contra a nuestro favor, ya que infecciones del lecho quirúrgico aumentan notablemente la inflamación y con los efectos negativos ya mencionados anteriormente.

El tiempo de sacrificio. Si en lugar de 14 y 28 días hubiésemos establecido un período mayor de tiempo, quizás al desaparecer los efectos de la inflamación se hubiera mostrado en el grupo alginato y en el grupo alginato con factores de crecimiento unos resultados positivos en cuanto a los depósitos de colágeno y a su organización y homogeneidad.

En definitiva, a pesar de los estudios presentados sobre el alginato y los factores de crecimiento respecto a la regeneración y reparación de los tejidos dañados, el trabajo de investigación que presentamos no ha arrojado resultados positivos frente a la premisa planteada en un principio. Sin embargo, precisarían estudios con un mayor número de sujetos y corrigiendo los posibles errores ya planteados para obtener una malla con las características deseadas, de manera que aporte beneficios a los actuales en un futuro no muy lejano.

## 7.CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el estudio experimental que presentamos nos permite extraer las siguientes conclusiones:

1. El proceso de reparación del defecto de pared abdominal ha sido reproducido en nuestro modelo de experimentación, de forma que es comparable desde el punto de vista fisiológico e histológico al que presenta el ser humano y por lo tanto extrapolable al mismo.
2. La utilización de alginato con gluconato cálcico como hidrogel para mejorar la biocompatibilidad y el proceso de cicatrización de la prótesis de ácido poliglicólico no ha mostrado diferencias significativas tras 14 y 28 días de su implantación.
3. La utilización de alginato con gluconato cálcico impregnado en la prótesis de ácido poliglicólico no ha demostrado ser eficaz en la prevención de adherencias al ser colocado intraperitonealmente, llegando a desarrollar adherencias tipo 4 e incluso una fístula en uno de los sujetos estudiados.
4. La utilización de alginato con gluconato cálcico no ha mostrado presentar un menor grado de inflamación tras la colocación de la prótesis. Asimismo, tampoco ha mejorado el proceso natural de cicatrización respecto a la prótesis desnuda.
5. La utilización de factores de crecimiento agregados a la prótesis con alginato y gluconato cálcico no ha mejorado la capacidad de organización y depósito del colágeno en la zona reparada.
6. La utilización de factores de crecimiento agregados a la prótesis con alginato y gluconato cálcico no ha presentado una optimización respecto a la cicatrización comparada con la prótesis desnuda o con alginato con gluconato cálcico en nuestro modelo animal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Read R. Historical survey of the treatment of hernia. En: Nyhus LM, Condon RE, editors. *Hernia*. 3rd ed. Philadelphia, PA, USA: J.B. Lippincott Co.;1989:3-17.
2. Rutkow IM. A selective history of groin herniorrhaphy in the 20th century. *Surg Clin North Am* 1993;73:395-411.
3. Laín Entralgo P. *Historia universal de la medicina*, Barcelona, Spain: Salvat Editores;1972.
4. Porrero CJ. *Cirugía de la pared abdominal*. Barcelona, Spain: Masson, S.A;1997.
5. Read RC. The centenary of Bassini's contribution to inguinal herniorrhaphy. *Am J Surg* 1987;153:324-326.
6. Gilbert AI: inguinal hernia: anatomy and management. *MedicaLogic/Medscape* 2000.
7. Bassini E. Nuovo metodo per la cura radicale dell'ernia. *Acth Lang Assoc Med Ital* 1887;2:179.
8. Ferguson AH. *The technic of modern operations for hernia*. Chicago, IL, USA; Cleveland Press;1907.
9. Rutkow IM. *Cirugía de hernias. Clínicas quirúrgicas de Norteamérica*. México D.F. Interamericana McGraw-Hill; 1993.pp.3:423-41.
10. La Roque GP. The permanent cure of inguinal and femoral hernia; a modification of the standard operative procedures. *Surg Gynecol Obstet* 1919;29:507-511.
11. Cheatle GL. An operation for radical cure of inguinal and femoral hernia. *Br Med J* 1920;2:68-69.
12. Shearburn EW, Myers RN. Shouldice repair for inguinal hernia. *Surgery* 1969;66:450-9.
13. McVayCB. Inguinal and femoral hernioplasty: Anatomic repair. *Arch Surg* 1948;57:524-530.
14. McGregor DB, McVay CB. The practicing Anatomist. *Arch Surg* 2002;137:13-15.
15. Lichtenstein IL. *Hernia repair without disability*. St. Louis, MO, Ishiyaku Euroamerica Inc;1986.

16. Amid PK. The Lichtenstein open tension-free hernioplasty. *Cir Gen* 1998;20:17-20.
17. Cervantes CJ. *Cirugía laparoscópica y toracoscópica*. México: McGraw-Hill Interamericana. 1997.pp.180-208.
18. Crawford DL. Laparoscopic repair and groin hernia surgery. *Surg Clin North Am* 1998;78:1047-1062.
19. MacFadyen BV, Arregui ME, Corbitt J Jr. Complications of laparoscopic herniorrhaphy. *Surg Endosc* 1993;7:155-158.
20. Arregui ME, Navarrete J, Davis CJ. Laparoscopic inguinal herniorrhaphy. Techniques and controversies. *Surg Clin North Am* 1993;73:513-527.
21. Frorez-Zorrilla C, Cervantes J, Rojas G. Hernioplastia inguinal con malla. Experiencia inicial de tres años en el Hospital ABC. *Cir Gen* 2000;22:19.
22. Klinge U. "Anatomy and Physiology of the Abdominal Wall" in *Laparoscopic Ventral Hernia Repair*. S. Morales Conde; Ed. Springer 2002. Págs. 37-45. ISBN: 2287597557
23. Thomas W. Sadler. *Langman's Medical Embryology*. Lippincott Williams & Wilkins. 2006.
24. Testut, L. *Tratado de Anatomía Humana*: Barcelona. Salvat y C<sup>a</sup>. S.A. (pág 1910). 6<sup>a</sup> ed. Volumen de Miología.
25. Spalteholz. *Atlas de Anatomía Humana: Regiones, músculos, aponeurosis, corazón y vasos sanguíneos*. Werner Labor, (Buenos Aires), Argentina 7 ed, 1974.
26. M. Kirshner. *Tratado de técnica operatoria General y Especial*. Capítulo: Cirugía de las hernias, pág: 58-109. Editorial Labor S.A. – 1936
27. Klinge U. "Anatomy and Physiology of the Abdominal Wall" in *Laparoscopic Ventral Hernia Repair*. S. Morales Conde; Ed. Springer 2002. Págs. 46-9. ISBN: 2287597557
28. Netter F.: "Interactive Atlas of Human Anatomy"; 1995. Ciba Medical Education and Publications.
29. Andersen M, Bugedo G, Díaz O. *Ventilación mecánica*. Chile: Editorial Mediterráneo Ltda; 2010.
30. Koch OE et al. Constitución de los músculos rectos abdominales y sus aplicaciones fisiopatológicas y terapéuticas, Trabajo de investigación presentado en el XXXII Congreso de la Asociación Rioplatense de Anatomía; 1995.
31. Ganong W. *Fisiología Médica*. 20 ed. Editorial Manual Moderno; 2006.

32. De Vito EI. Fatiga de los músculos respiratorios en terapia intensiva en *Terapia Intensiva*. SATI. 4 ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 2007.
33. González Uriarte J, Murillo J, Michelena JM, et al. Utilidad del control de la presión intrabdominal en el tratamiento de las eventraciones gigantes. *Cir Esp* 2002;71(4):189-191.
34. Fortuny G., Rodríguez-Navarro J., Susín A., Armengol-Carrasco M., López-Cano M. (2009): A simulation finite element model for the mechanics of the internal oblique muscle: a defense mechanism against inguinal hernia formation. *Comput Biol Med.* 39(9):794-9.
35. Ceydeli A, Rucinski J, Wise L. Finding the best abdominal closure: an evidence-based review of the literature. *Curr Surg* 2005;62:220-225.
36. Bellón JM, Durán H. Factores biológicos implicados en la génesis de la hernia incisional. *Cir Esp* 2008;83:3-7.
37. Benjamin M, Hillen B. Mechanical influences on cells, tissues and organs-“Mechanical morphogenesis”. *Eur J Morphol* 2003;41:3-7.
38. Höer J, Lawong G, Klinge U, Schumpelick V. Factors influencing the development of incisional hernia. A retrospective study of 2,983 laparotomy patients over a period of 10 years. *Chirurg* 2002;73:474-480.
39. Höer JJ, Junge K, Schachtrupp A, Klinge U, Schumpelick V. Influence of laparotomy closure technique on collagen synthesis in the incisional region. *Hernia* 2002;6:93-98.
40. Israelsson LA. Wound dehiscence and incisional hernia: mechanisms and prevention. En: Fitzgibbons RJ, Greenburg AG, editores. *Nyhus and Condon's hernia*. 5 ed. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 327-40.
41. O'Dwyer PJ, Courtney CA. Factors involved in abdominal wall closure and subsequent incisional hernia. *Surgeon* 2003;1:17-22.
42. Sauerland S, Korenkov M, Kleinen T, Arndt M, Paul A. Obesity is a risk factor for recurrence after incisional hernia repair. *Hernia* 2004;8:42-46.
43. Jorgensen LN, Kallehave F, Christensen E, Siana JE, Gottrup F. Less collagen production in smokers. *Surgery* 1998;123:450-455.
44. Sorensen LT, Friis E, Jorgensen LN, Vennits B, Andersen BR, Rasmussen GI, Kjaergaard J. Smoking is a risk factor for recurrence of groin hernia. *World J Surg* 2002;26:397-400.
45. Lord RS, Crozier JA, Snell J, Meek AC. Transverse abdominal incisions compared with midline incisions for elective infrarenal aortic reconstructions: predisposition to incisional hernia in patients with increased intraoperative blood loss. *J Vas Surg* 1994;20:27-33.

46. Farreras N, Artigas V, Cardona D, Rius X, Trias M, González JA. Effect of early postoperative enteral immunonutrition on wound healing in patients undergoing surgery for gastric cancer. *Clin Nutr* 2005;24:55-65.
47. Moussavian M, Schuld J, Dauer J, Justinger C, Kollmar O, Schilling M. Long term follow up for incisional hernia after severe secondary peritonitis-incidence and risk factors. *Am J Surg* 2010;200:229-234.
48. Soto M, García MA, Velasco M, Pedrero G. La eventración lumbar como complicación de la lumbotomía por el flanco: revisión de nuestra serie. *Actas Urol Esp* 2002;26:345-350.
49. Togo S, Nagano Y, Masumoto C, Takakura H, Matsuo K, Takeda K, et al. Outcome of and risk factors for incisional hernia after partial hepatectomy. *J Gastrointest Surg* 2008;12:1115-1120.
50. Yahchouchy-Chouillard E, Aura T, Picone O, Etienne JC, Fingerhut A. Incisional hernias. Related risk factors. *Dig Surg* 2003;20:3-9.
51. Riet MV, Steyerberg EW, Nellensteyn J, Bonjer HJ, Jeekel J. Metaanalysis of techniques for closure of midline abdominal incisions. *Br J Surg* 2002;89:1350-1356.
52. Rucinski J, Margolis M, Panagopoulos G, Wise L. Closure of the abdominal midline fascia: meta-analysis delineates the optimal technique. *Am Surg* 2001;67:421-426.
53. Makela JT, Kiviniemi H, Juvonen T, Laitinen S. Factors influencing wound dehiscence after midline laparotomy. *Am J Surg* 1995;170:387-390.
54. Klinge U, Si ZY, Zheng H, Schumpelick V, Bhardwaj RS, Klosterhalfen B. Collagen I/III and matrix metalloproteinases (MMP) 1 and 13 in the fascia of patients with incisional hernias. *J Invest Surg* 2001;14:47-54.
55. Rosch R, Junge K, Knops M, Lynen P, Klinge U, Schumpelick V. Analysis of collagen-interacting proteins in patients with incisional hernia. *Langebecks Arch Surg* 2003;387:427-432.
56. Wang J, Boerma M, Fu Q, Hauer-Jensen M. Radiation responses in skin and connective tissues: effect on wound healing and surgical outcome. *Hernia* 2006;10:502-506.
57. Halm JA, Lip H, Jeekel J. Incisional hernia after upper abdominal surgery: a randomised controlled trial of midline versus transverse incision. *Hernia* 2009;13:275-280.
58. Grantcharov TP, Rosenberg. Vertical compared with transverse incisions in abdominal surgery. *J Eur Surg* 2001;167:260-267.



59. Hughes K, Selim NM. The lateral paramedian: revisiting a forgotten incision. *Am Surg* 2009;75:321-323.
60. Kendall SWH, Brennan TG, Guillou PJ. Suture length to wound length ratio and the integrity of midline and lateral pMMAmedial incisions. *Br J Surg* 1991;78:705-707.
61. Friedman DW, Boyd CD, Norton P, Greco RS, Boyarsky AH, Mackenzie JW, Deak SB. Increases in type III collagen gene expression and protein synthesis in patients with inguinal hernias. *Ann Surg* 1993;218:754-760.
62. Bellón JM, Buján J, García Honduvilla N, Jurado F, Gimeno MJ, Turnay J, et al. Study of biochemical substrate and role of metalloproteinases in fascia transversalis from hernia processes. *Eur J Clin Invest* 1997;27:510-516.
63. Bellón JM, Bajo A, García Honduvilla N, Gimeno MJ, Pascual G, Guerrero A, et al. Fibroblasts from the transversalis fascia of young patients with direct inguinal hernia show constitutive MMP-2 overexpression. *Ann Surg* 2001;233:287-291.
64. Skalihasan N, Delvenne Ph, Nussgens BV, Limer R, Lapière ChM. Activated forms of MMP2 and MMP9 in abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 1996;24:127-133.
65. Gillen Martí J, Díaz R, Quiles MT, López Cano M, Vilallonga R, Huguet P. MMP/TIMP and inflammatory signalling deregulation in human incisional hernia tissues. *J Cell Mol Med* 2008;13:4432-4443.
66. Nagaseh, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006;69:562-573.
67. Benjamin M, Hillen B. Mechanical influences on cells, tissues and organs—"Mechanical morphogenesis". *Eur J Morphol* 2003;41:3-7.
68. Katsumi A, Orr AW, Tzima E, Schwartz MA. Integrins in mechanotransduction. *J Biol Chem* 2004;279:12001-12004.
69. Dubay DA, Wang X, Kirk S, Adamson B, Robson MC, Franz MG. Fascial fibroblast kinetic activity is increased during abdominal wall repair compared to dermal fibroblasts. *Wound Rep Reg* 2004;12:539-545.
70. Franz MG, Kuhn MA, Nguyen K, Wang X, Ko F, Weig TE, et al. Transforming growth factor 2 lowers the incidence of incisional hernias. *J Res* 2001;97:109-116.
71. Dubay DA, Wang X, Kuhn MA, Robson MC, Franz MG. The prevention of incisional hernia formation using a delayed-release polymer of basic fibroblast growth factor. *Ann Surg* 2004;240:179-186.
72. Christou NV, Jarand J, Sylvestre JL, McLean APH. Analysis of the incidence and risk factors for wound infections in open bariatric surgery. *Obes Surg* 2004;14:16-22.

73. Rosch R, Junge K, Knops M, Lynen P, Klinge U, Schumpelick V. Analysis of collagen-interacting proteins in patients with incisional hernia. *Langebecks Arch Surg* 2003;387:427-432.
74. Rutkow IM, Robbins AW. Dermographic, classificatory and socio-economy aspects of hernia repair in the Unites States. *Surg Clin North Am* 1993; 73-413.
75. Testut L., Latarjet A. Anatomía humana Vol 1. Barcelona: Salvat, 1974; 947-968.
76. Zollinger RM Jr. Classification systems for groin hernias. *Surg Clin North Am*. 2003; 83: 1053-63.
77. Chevrel JP. Inguinal, crural, umbilical hernias. Physiopathology, diagnosis, complications, treatment. *Rev Prat*. 1996 Apr 15; 46(8):1015-23.
78. Barbul A: Wound healing. In: Schwatzr's Principles of Surgery. 8 edition. Edited by: Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE. New York: McGraw-Hill; 2005: 223-48.
79. Gosain A, DiPietroLA. Review aging and wound haeling. *World J Surg*. 2004; 28:321-6.
80. Keiper T, Santoso S, Nawroth PP, Orlova V, Chavakis T. The role of junctional adhesión molecules in cell-cell interactions. *Histol Hitopathol*. 2005;20:197-203.
81. Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Bioscis*. 1997;2:12-26.
82. Rizk M, Witte MB, Barbul A. Nitric oxide and wound healing. *World J Surg*.2004;28:301-6.
83. Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenetic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech*. 2003;60:107-14.
84. Berrier AL, Yamada KM. Cell-matrix adhesión. *J Cell Physiol*. 2007;213:565-73.
85. Agren MS, Werthen M. The extracellular matrix in wound healing: a closer look at therapeutics of chronic wounds lower extremity. *Wounds*. 2007;6:82-97.
86. Coronato S, Laguens G, di Girolamo V. Rol de las metaloproteinasas y sus inhibidores en patología tumoral. *Medicina (B. Aires)*. 2012;72:495-502.
87. Agren MS, Jorgensen LN, Andersen M, Viljanto J, Gottrup F. Matrix metalloproteinase 9 level predicts optimal collagen deposition during early wound repair in humans. *Br J Surg*. 1998;85:68-71.

88. Gill SE, Parks WC. Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40:1334-47.
89. Madlener M, Parks WC, Werner S. Matrix Metalloproteinases (MMPs) and their physiological inhibitors (TIMPs) are differentially expressed during excisional skin wound repair. *Exp Cell Res.* 1998;242:201-10.
90. Teller P, White TK. The physiology of wound healing: Injury through maturation. *Surg Clin North Am.* 2009;89:599-610.
91. Scales JT. Discussion on metals and synthetic materials in relation to soft tissue: Tissue reaction to synthetic materials. *Proc Roy Soc Med* 1953;46:647-652.
92. Bellón JM, García Honduvilla N, López R, Corrales C, Jurado F, Buján J. In vitro mesothelialization of prosthetic materials designed for the repair of abdominal wall defects. *J Mat Sci (Mat in Med)* 2003;14:359-364.
93. Bellón JM, Rodríguez M, García Honduvilla N, Pascual G, Buján J. Partially absorbable meshes for hernia repair offer advantages over nonabsorbable meshes. *Am J Surg* 2007;194:68-74.
94. Pascual G, Rodríguez M, Gómez Gil V, García Honduvilla N, Buján J, Bellón JM. Early tissue incorporation and collagen deposition in lightweight polypropylene meshes: bioassay in an experimental model of ventral hernia. *Surgery* 2008;144:427-435.
95. Junge K, Rosch R, Krones CJ, Klinge U, Mertens PR, Lynen P, et al. Influence of polyglycaprone 25 (Monocryl) supplementation on the biocompatibility of a polypropylene mesh for hernia repair. *Hernia* 2005;9:212-217.
96. Klinge U, Klosterhalfen B, Birkenhauer V, Junge K, Conce J, Schumpelick V. Impact of polymer pore size of the interface scar formation in a rat model. *J Surg Res* 2002;103:208-214.
97. Amid PK. How to avoid recurrence in Lichtenstein tension-free hernioplasty. *Am J Surg* 2002;184:259-268.
98. Bellón JM, Contreras LA, Pascual G, Buján J. Neoperitoneal formation after implantación of various biomaterials for the repair of abdominal wall defects in rabbits. *Eur J Surg* 1999;165:145-150.
99. Klinge U, Klosterhalfen B, Müller M, Öttinger AP, Schumpelick V. Shrinking of polypropylene mesh in vivo: An experimental study in dogs. *Eur J Surg* 1998;164:965-969.
100. Schein M, Wittman DH, Aprahamian CC, Condon RE. The abdominal compartment syndrome: The physiological and clinical consequences of elevated intraabdominal pressure. *J Am Coll Surg* 1995;180:745-753.

101. Bellón JM, Jurado F, García Moreno F, Corrales C, Carrera San Martín A, Buján J. Healing process induced by three composite prostheses in the repair of abdominal wall defects. *J Biomed Mat Res (Appl Biomater)* 2002; 63:182-190.
102. Earle DB, Mark LA. Prosthetic material in inguinal hernia repair: How do I choose? *Surg Clin N Am* 2008;88:179-201.
103. Bellón JM. Propuesta de una nueva clasificación de prótesis destinadas a la reparación de defectos herniarios en la pared abdominal. *Cir Esp.* 2005;78:148-51.
104. Liang HC, Chang Y, Hsu CK, Lee MH, Sung HW. Effects of crosslinking degree of an acellular biological tissue on its tissue regeneration pattern. *Biomaterials.* 2004;25:3541-52.
105. Lippert H. Anatomía. Texto y atlas. Marban, Madrid. 1999; 156-170.
106. Gilbert AI. An anatomic and functional classification for the diagnosis and treatment of inguinal hernia. *Am J Surg.* 1989 Mar;157(3):331-3.
107. Anderson JM (2006) The future of biomedical materials. *J Mater Sci Mater Med*, 17:1025-1028.
108. Williams DF (1976) Biomaterials and biocompatibility. *Med Prog Technol*, 4:31-42
109. Williams DF (1999) The Williams dictionary of bio- materials. Liverpool, UK. University Press.
110. Hench LL, Ethridge ECE (1982) Biomaterials. An interfacial approach. *Biophysics and Bioengineering Series Vol 4.* Academic Press. NY
111. Marques AP, Reis RL, Hunt JA (2002) The biocompatibility of novel starch-based polymers and composites: in vitro studies. *Biomaterials*, 23:1471-1478.
112. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG (2007) Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*,13:1-10.
113. Binyamin G, Shafi BM, Mery CM (2006) Biomaterials: a primer for surgeons. *Semin Pediatr Surg*, 15:276-283.
114. Singh R, Dahotre NB (2007) Corrosion degradation and prevention by surface modification of biomaterials. *J Mater Sci Mater Med.* 18:725-751.
115. Disegi JA, Eschbach L(2000) Stainless steel in bone surgery. *Injury* 31 Suppl 4:2-6.
116. Hench LL (1973) Ceramics, glasses, and composites in medicine. *Med Instrum*, 7:136-144.

117. Vallet-Regi M (2006) Revisiting ceramics for medical applications. *Dalton Trans* 44:5211-20
118. Valimaki VV, Aro HT. (2006) Molecular basis for action of bioactive glasses as bone graft substitute. *Scand J Surg*, 95:95-102.
119. Jones JR, Ehrenfried LM, Saravanapavan P, Hench LL. (2006) Controlling ion release from bioactive glass foam scaffolds with antibacterial properties. *J Mater Sci Mater Med*, 17:989-996.
120. Frazer RQ, Byron RT, Osborne PB, West KP (2005) PMMA: an essential material in medicine and dentistry. *J Long Term Eff Med Implants*, 15:629-39.
121. Hoffman AS (2002) Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 54:3-12.
122. Hahn SK, Jelacic S, Maier RV, Stayton PS, Hoffman AS (2004) Anti-inflammatory drug delivery from hyaluronic acid hydrogels. *J Biomater Sci Polym Ed*, 15:1111-1119
123. Commandeur S, van Beusekom HM, van der Giessen WJ (2006) Polymers, drug release, and drug-eluting stents. *J Interv Cardiol*, 19:500-506.
124. Kricheldorf HR, Burger R. *New Polymer Syntheses* .65. New Terephthalic Acids with Aromatic Substituents and Thermotropic Polyesters Derived from Them. *Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics* 1993; 194(8):2183-2198.
125. Michaeli W. Injection moulding of biodegradable implants. *Clinical Materials* 1992; 10:21-28.
126. Middleton JC, Tipton AJ. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* 2000; 21(23):2335- 2346.
127. Barrows T. Degradable implants materials: a review of synthetic absorbable polymers and their applications. *Clinical Materials* 1986; 1:233-267.
128. C. Thomasin, G. Corradin, Y. Men, H. P. Merkle, B. Gander, Tetanus toxoid and a synthetic malaria antigen in PLA/PLGA microspheres: Importance of polymer degradation and antigen release for immunological response, *J Control Release*, 41,131 (1996).
129. Pietrzak WS, Verstynen ML, Sarver DR. Bioabsorbable fixation devices: Status for the craniomaxillofacial surgeon. *Journal of Craniofacial Surgery* 1997; 8(2):92-96.
130. Mooney DJ, Park S, Kaufmann PM, Sano K, Mcnamara K, Vacanti JP et al. Biodegradable Sponges for Hepatocyte Transplantation. *Journal of Biomedical Materials Research* 1995; 29(8):959-965.

131. Hutmacher D, Hürzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996;11:667-78.
132. Montejo N, Varella A, Hernández A. Materiales de sutura quirúrgica. Antecedentes históricos y empleo actual de los mismos. *Rev Cubana Cir* 1990; 29(2):211-24.
133. Fernández A. Taller de suturas en video. 2008. <http://www.cirugiadema.com./suturas.htm>.
134. The Royal Collage of Surgeons of England. Introduction to surgical skills. Module one. The Commonwealth of Learning. Banjul, 2006; pp.29
135. Beers M, Porter R, Jones T, Kaplan J, Berkwits M. Materiales de sutura en Manual Merck de diagnóstico y tratamiento. Tomo X. 11 ed. española. Elsevier España S.A. Madrid, 2007; pp.2823
136. Assut Europe y Unotec Europe. Suture Chirurgiche. Italia. 2006
137. Knauf M, Kohal RJ. Materiales y técnica de sutura en cirugía periodontal. *Publicación Internacional* 2007; 20(6):348-72.
138. Bateman JF, Lamande SR, Ramshaw JAM (1996) Collagen superfamily. En *Extracellular Matrix*. Ed. WD Comper Vol.2 Harwood Academic Publishers . UK. pp 22-67.
139. Lee CH, Singla A, Lee Y (2001) Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm*, 221:1-22.
140. Ruszczak Z, Friess W (2003) Collagen as a carrier for on-site delivery of antibacterial drugs. *Adv Drug Deliv Rev*, 55:1679-1698.
141. Patino MG, Neiders ME, Andreana S, Noble B, Cohen RE (2002) Collagen as an implantable material in medicine and dentistry. *J Oral Implantol*, 28:220-225.
142. Gurney TA, Kim DW (2007) Applications of porcine dermal collagen (ENDURAGen) in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg Clin North Am*, 15:113-21.
143. Matarasso SL (2006) The use of injectable collagens for aesthetic rejuvenation. *Semin Cutan Med Surg*, 25:151-157.
144. Binyamin G, Shafi BM, Mery CM (2006) Biomaterials: a primer for surgeons. *Semin Pediatr Surg*, 15:276-283.
145. Zhao Q, Han B, Wang Z, Gao C, Peng C, Shen J (2007) Hollow chitosan-alginate multilayer microcapsules as drug delivery vehicle: doxorubicin loading and in vitro and in vivo studies. *Nanomedicine*, 3:63-74.

146. Kogan G, Soltes L, Stern R et al. Hyaluronic Acid; a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol Lett* 2007;29:17.
147. McKee CM, Penno MB, Cowman M, Burdick MD, Strieter RM, Bao C, Noble PW. Hyaluronan (HA) fragments induce chemokine gene expression in alveolar macrophages. The role of HA size and CD44. *J Clin Invest* 1996;98:2403.
148. Alam M, Dover JS. Management of complications and sequelae with temporary injectable fillers, *Plast reconstr Surg* 2007;120:98S.
149. Dover JS, Rubin MG, Bhatia AC. Review of the efficacy, durability and safety data of two non animal stabilized hyaluronic acid fillers from a prospective, randomized, comparative, multicentre study. *Dermatol Surg* 2009; 35:322.
150. Shafir R, Amir A, Gur E. Long-term complications of facial injections with Restylane (injectable hyaluronic acid). *Plast Reconstr Surg* 2000;106:1215-6.
151. Andre P. Evaluation of the safety of a non-animal stabilized hyaluronic acid in European countries: a retrospective study from 1997 to 2001. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2004;18:422-5.
152. Christensen L, Breiting V, Janssen M, Vuust J, Hogdall E. Adverse reactions to injectable soft tissue permanent fillers. *Aesthetic Plast Surg* 2005;29:34.
153. Gómez de la Fuente E, Álvarez-Fernández JG, Pinedo F, Naz E, Gamo R, Vicente-Martín FJ, López-Esteban JL. Reacción cutánea tras implante con Bio-Alcamid. *Act Dermatosifiliograf* 2007;98:271.
154. Dennis J. McHugh. "Production, Properties and Uses of Alginates". Department of Chemistry, University College. University of New South Wales. Australian Defence Force Academy. Campbell, ACT 2600, Australia.
155. Kirk, Raymond; Othmer, Donald F. "Enciclopedia de Tecnología Química". 1ª edición. 1 vol. México: Limusa, 1998.
156. Kirk, Raymond; Othmer, Donald F. "Enciclopedia de Tecnología Química". New York: Interscience, c1956. 15 vol. Tomos: I, V, X.
157. Reza Arshady. "Desk Reference of Functional Polymers Syntheses and Applications". Ed. American Chemical Society, Washington DC, 1996.
158. Doyle J, Roth T, Smith R, Li YQ, Dunn R. Effects of calcium alginate on cellular wound healing processes modeled in vitro. *J Biomed Mater Res.* 1996;32:561-8.
159. Cohen J, Zaleski KL, Nourissat G, Julien TP, Randolph MA, Yaremchuk MJ. Survival of porcine mesenchymal stem cells over the alginate recovered cellular method. *J Biomed Mater Res A.* 2011;96:93-9.

160. Bron JL, Vonk LA, Smit TH, Koenderink GH. Engineering alginate for intervertebral disc repair. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2011;4:1196-205.
161. Barminko J, Kim JH, Otsuka S, Gray A, Schloss R, Grumet M, Yarmush ML. Encapsulated mesenchymal stromal cells for in vivo transplantation. *Biotechnol Bioeng.* 2011 Jun 8.
162. Frampton JP, Hynd MR, Shuler ML, Shain W. Fabrication and optimization of alginate hydrogel constructs for use in 3D neural cell culture. *Biomed Mater.* 2011;6:015002.
163. Ruvinov E, Harel-Adar T, Cohen S. Bioengineering the Infarcted Heart by Applying Bio-inspired Materials. *J Cardiovasc Transl Res.* 2011; Jun 8.
164. Bai XP, Zheng HX, Fang R, Wang TR, Hou XL, Li Y, Chen XB, Tian WM. Fabrication of engineered heart tissue grafts from alginate/collagen barium composite microbeads. *Biomed Mater.* 2011;6:045002.
165. Girandon L, Kregar-Velikonja N, Božikov K, Barlič A. In vitro models for adipose tissue engineering with adipose-derived stem cells using different scaffolds of natural origin. *Folia Biol (Praha).* 2011;57:47-56.
166. Petrenko YA, Ivanov RV, Petrenko AY, Lozinsky VI. Coupling of gelatin to inner surfaces of pore walls in spongy alginate-based scaffolds facilitates the adhesion, growth and differentiation of human bone marrow mesenchymal stromal cells. *J Mater Sci Mater Med.* 2011;22:1529-40.
167. Möller L, Krause A, Dahlmann J, Gruh I, Kirschning A, Dräger G. Preparation and evaluation of hydrogel- composites from methacrylated hyaluronic acid, alginate, and gelatin for tissue engineering. *Int J Artif Organs.* 2011;34:93-102.
168. Hsu SH, Huang TB, Cheng SJ, Weng SY, Tsai CL, Tseng CS, Chen DC, Liu TY, Fu KY, Yen BL. Chondrogenesis from human placenta-derived mesenchymal stem cells in three-dimensional scaffolds for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part A.* 2011;17:1549-60
169. Gautier A, Carpentier B, Dufresne M, Vu Dinh Q, Paullier P, Legallais C. Impact of alginate type and bead diameter on mass transfers and the metabolic activities of encapsulated C3A cells in bioartificial liver applications. *Eur Cell Mater.* 2011 Jan 25;21:94-106.
170. Rezende R, Rezende M, Bártolo P, Mendes A, Filho R. Optimization of Scaffolds in Alginate for Biofabrication by Genetic Algorithms. *Computer Aided Chemical Engineering.* 2009;27:1935-40.
171. Miranda ES, Silva TH, Reis RL, Mano JF. Nanostructured Natural-Based Polyelectrolyte Multilayers to Agglomerate Chitosan Particles into Scaffolds for Tissue Engineering. *Tissue Eng Part A.* 2011 Jul 26.



172. Grandi C, Di Liddo R, Paganin P, Lora S, Dalzoppo D, Feltrin G, Giraudo C, Tommasini M, Conconi MT, Parnigotto PP. Porous alginate/poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds: preparation, characterization and in vitro biological activity. *Int J Mol Med*. 2011;27:455-67.
173. Lee GS, Park JH, Won JE, Shin US, Kim HW. Alginate combined calcium phosphate cements: mechanical properties and in vitro rat bone marrow stromal cell responses. *J Mater Sci Mater Med*. 2011;22:1257-68.
174. Dagobert Tutsch<sup>;</sup>, Norbert Boss<sup>;</sup>, Gunter Wangerin, editor. *Diccionario Médico Roche*; 1993.
175. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998; 9(3): 248-66.
176. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg*. 1994 02; 52(2): 161.
177. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998 06; 85(6): 638-46.
178. Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M et al. Autologous fibrin matrices: a potencial source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res* 2006;77A;285-293.
179. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of the bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 2002;84;1032-1044.
180. Tabata Y. Tissue regeneration based on growth factors release. *Tissue Eng* 2003;9;505-515.
181. Luginbuehl V, Meinel L, Merkle HP, Gander B. Localized delivery of growth factors for bone repair. *Eur J Pharm Biopharm* 2004;58;197-208.
182. Mundy GR. Factores locales en el control de la reabsorción y formación de hueso. In: Cannata JB (eds.). *Actualizaciones en metabolismo óseo*. Madrid: Jarpyo Editores 1992. p. 41-6.
183. Anitua E. La utilización de los factores de crecimiento plasmáticos en cirugía oral, maxilofacial y periodoncia (PRGF). *RCOE* 2001;6;305-315.
184. Marx RE. Platelet rich plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone grafts. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). *Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence, 1999;71-82.

185. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 1986;46:155-169.
186. Bolufer P. Factor de crecimiento epidérmico y su papel en el desarrollo tumoral. *Oncología* 1988;11:1-7.
187. Martín D. Activación oncogénica de receptores tirosina quinasa. *Rev Cancer* 1995;9:202-18.
188. Martínez-Valverde AM, Lorenzo M. Transducción de señales mitogénicas y de diferenciación celular. *Rev Cancer* 1999;13:100-109.
189. Anitua EMP. The use of plasma rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Prad Proced Aesthet Dent* 2001;13:487-493.
190. Lannenberg R, Roy M, Gilckman R. Quantification of growth factors levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000; 58:297-300.
191. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potencial impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials* 2007; 28: 4551-4560.
192. Gruber R, Varga F, Fischer MB, Watzek G. Platelet stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:529-535.
193. Arriaza R, Fernández JC, Aizpurua J, Couceiro G. Resultados del tratamiento de retardos de consolidación en huesos largos con ondas de choque extracorpóreas y plasma rico en factores de crecimiento. *Acta Ortoped Gallega* 2005;1:41-44.
194. Praemer AF, et al. *Musculoskeletal conditions in the United States*, 2nd ed. Rosemont, III: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
195. Anitua E, Andía I, Sanchez M, Azofra J, Zalduendo M, et al. Autologous preparations in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in cultura. *J Orthop Res* 2005;123:281-286.
196. Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M et al. Reciprocal actions of platelet-secreted TGF- $\beta$ 1 on the production of VEGF and HGF by human tendon cells. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:950-959.
197. Stedd DL and the Diabetic Ulcer Study Group. Clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. *J Vasc Surg* 1995;21:71-81.
198. Escotto I, Rodríguez JM, Padilla L, Rodríguez N. Factores de crecimiento en el tratamiento de úlceras en pacientes diabéticos. *Rev Mex Angiol* 2001;29:75-82.

199. Martí-Mestre FX, Acosta-Gómez M, Bonell-Pascual A, Linarez-Ruiz P, Romera A, Iñiguez-Navas C, Lapiedra-Mur, O. Resultados preliminares de la aplicación de factores de crecimiento en el tratamiento de las úlceras vasculares. *Angiologia* 2005;57:335-343.
200. Everts PAM, Devilee RJJ, Brown Mahoney C, Eeftinck-Schattenkerk M, Box HAM, Knape JTA, van Zundert A. Platelet gel and fibrin sealant reduce allogeneic blood transfusions in total knee arthroplasty. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:593-599.
201. García-Gimenez J, González JA. Tratamiento del envejecimiento cutáneo mediante estimulación con factores de crecimiento autógenos. Parte I y II. *Int J Cosmetic Surg Med*. 2005;7;8-17.
202. Hernández I, Rozan G, Dávila M. Reingeniería de tejidos. Plasma rico en plaquetas como inductor de reparación en la paniculopatía edematofibroesclerótica. *Int J Cosmetic Surg Med* 2005;7;18-24.
203. Montejo N, Varella A, Hernández A. Materiales de sutura quirúrgica. Antecedentes históricos y empleo actual de los mismos. *Rev Cubana Cir* 1990; 29(2):211-24.
204. The Royal Collage of Surgeons of England. Introduction to surgical skills. Module one. The Commonwealth of Learning. Banjul, 2006; pp.29.
205. Beers M, Porter R, Jones T, Kaplan J, Berkwits M. Materiales de sutura en Manual Merck de diagnóstico y tratamiento. Tomo X. 11 ed. española. Elsevier España S.A. Madrid, 2007; pp.2823.
206. Knauf M, Kohal RJ. Materiales y técnica de sutura en cirugía periodontal. *Publicación Internacional* 2007; 20(6):348-72.
207. Von Hoosier G, The age of biology: opportunities and challenges for Laboratory Animal Medicine. *Scand J Lab Anim Sci* 1999; 26 (4): 176-184.
208. Zuñiga J, Tur M, Milocco S, Piñeiro R. Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal. México: McGraw-Hill Interamericana, 2001; p. 682.
209. Balch C, Bleyer A, Krakoff I, et al. The vital role of animal research in advancing cancer diagnosis and treatment. *Cancer Bulletin* 1990; 42: 266-269.
210. Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook. 2nd ed. Office of Laboratory Animal Welfare. National Institutes of Health Department of Health and Human Services. Bethesda, MD. 2002; p. 210.
211. Olfert ED, Cross BM and Mc William AA. Guide to the care and use of experimental animals, Vol 1. 2nd ed. Ontario: Canadian Council on Animal Care, 1998; p. 211.

212. Clark JD, Rager DR, Calpin JP. Animal well-being. I. General considerations. *Lab Anim Sci.* 1997; 47(6): 564-579.
213. Obrink K, Rehbinder. Animal definition: a necessity for the validity of animal experiments? *Laboratory Animals* 2000: 34,121-130.
214. Russell W, Burch R. *The principles of humane experimental technique.* London: Methuen, 1992 (reprint is available from UFAW).
215. Goldberg A, Zurlo J, Rudacille D. The three Rs and biomedical research. *Science* 1996; 272: 1403.
216. Vanda-Cantón B. La experimentación biomédica en animales en los códigos bioéticos. *Lab Acta* 2003;15: 69-73.
217. Atchley W, Fitch W. Genes trees and the origins of inbred strain of mice. *Science* 1991; 254: 554-558.
218. Benavides F, Guénet J. *Manual de genética de roedores de laboratorio: principios básicos y aplicaciones.* Alcalá: Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SE- CAL)- Universidad de Alcalá, 2003; 312.
219. Festing M. *Inbred Strains in Biochemical Research.* London: Macmillan Press, 1979; 483 p.
220. Rosch R, Junge K, Quester R, Klinge U, Klosterhalfen B, Schumpelick V. Vypro II mesh in hernia repair: impact of polyglactin on long-term incorporation in rats. *Eur Surg Res.* 2003 Sep-Oct;35(5):445-50.
221. Weyhe D, Belyaev O, Buettner G, Mros K, Mueller C, Meurer K, Papapostolou G, Uhl W. In vitro comparison of three different mesh constructions. *ANZ J Surg.* 2008 Jan-Feb;78(1-2):55-60.
222. Rice RD1, Ayubi FS, Shaub ZJ, Parker DM, Armstrong PJ, Tsai JW. Comparison of Surgisis, AlloDerm, and Vicryl Woven Mesh grafts for abdominal wall defect repair in an animal model. *Aesthetic Plast Surg.* 2010 Jun;34(3):290-6.
223. Dolce CJ1, Stefanidis D, Keller JE, Walters KC, Newcomb WL, Heath JJ, Norton HJ, Lincourt AE, Kercher KW, Heniford BT. Pushing the envelope in biomaterial research: initial results of prosthetic coating with stem cells in a rat model. *Surg Endosc.* 2010 Nov;24(11):2687-93.
224. Ali Kemal Taskin, Mehmet Yasar, Ismet Ozaydin, Bulent Kaya, Orhan Bat, Seyit Ankarali, Umran Yildirim, Metin Aydin The hemostatic effect of calcium alginate in experimental splenic injury model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2013;19 (3):195-199.
225. Henderson NJ, Crawford PJ, Reeves BC. A randomised trial of calcium alginate swabs to control blood loss in 3-5-year-old children. *Br Dent J* 1998;184:187-90.

226. Aydin O, Tuncal S, Kilicoglu B, Onalan AK, Gonultas MA, Ozer H, Durhan A, Tasova V, Hucumenoglu S, Kismet K. Effects of Ankaferd Blood Stopper and calcium alginate in experimental model of hepatic parenchymal bleeding. *Bratisl Lek Listy*. 2015;116(2):128-31.
227. Hashemibeni B, Esfandiari E, Sadeghi F, Heidary F, Roshankhah S, Mardani M, Goharian V. An animal model study for bone repair with encapsulated differentiated osteoblasts from adipose-derived stem cells in alginate. *Iran J Basic Med Sci*. 2014 Nov;17(11):854-9.
228. M. Matoba, A. Hasimoto, A. Tanzawa, T. Orikasa, J. Ikeda, Y. Iwame et al. "Prevention of polyglycolic acid-induced peritoneal adhesions using alginate in a rat model". *Biomed Res Int*. 2015. 2015: 403413.
229. F. Aksoy, C. Vatansev, A. Tekin et al. Effect of ascitic media formed by glycerin on the prevention of peritoneal adhesions. *European Surgical Research*, vol. 43, no. 1, pp. 29–33, 2009.
230. Chaturvedi AA, Lomme RM, Hendriks T, van Goor H. Ultrapure alginate gel reduces adhesion reformation after adhesiolysis. *Int J Colorectal Dis*. 2014 Nov;29(11):1411-6.
231. Plencner et al. Abdominal closure reinforcement by using polypropylene mesh functionalized with polycaprolactone nanofibers and growth factors for prevention of incisional hernia formation. *International Journal of Nanomedicine* 2014;9 3263–3277.
232. IACUC guidelines for administration of analgesics and anxiolytics. Recognition and assessment of pain, stress and distress in laboratory animals. Virginia University, 1-7; 2007.
233. Knightly JJ, Agostino D, Clifton EE. The effect of fibrinolysin and heparin on the formation of peritoneal adhesion. *Surgery* 1962;52:250-8.
234. T. Nakamura, Y. Shimizu, S. Watanabe et al., "Bioabsorbable non-woven fabric for surgery," in *Medical Textiles for Implantation*, pp. 329–332, 1990.
235. Moreno, A., Unidades de Pared Abdominal y formación (en España). *Rev Hispanoamer Hernia*, 2013. 1(2): p. 55-56.
236. Breuing, K., et al., Incisional ventral hernias: review of the literature and recommendations regarding the grading and technique of repair. *Surgery*, 2010. 148(3): p. 544-58.
237. Moreno-Egea, A., et al. Treatment of non-midline ventral hernia: experience in an abdominal wall unit and literature review. *Cir Esp*, 2007. 81(6): p. 330-4.
238. Bellón Caneiro JM. El cierre de la laparotomía en la línea alba. *Cir Esp* 2005;77:114-23.

239. Hoer J, Lawong G, Klinge U, Schumpelick V. Factors influencing the development of incisional hernia. A retrospective study of 2983 laparotomy patients over a period of 10 years. *Chirurg* 2002;73:474-570
240. Calvo AM, Herrera FJ, Belen E, Ferrer JV et al. Incidencia de la eventración en la laparotomía media y subcostal después de Cirugía Mayor. Servicio de Cirugía General y Digestiva Hospital de Navarra. XII Congreso Nacional de Cirugía. Madrid 9-13 Nov. 1998.
241. Israelsson LA. The surgeon as risk factor for complications of midline incisions. *Eur J Surg* 1998;164:353-359.
242. Israelsson LA, Smedberg S, Montgomery, Nordin AP, Spangen L. Reparación de la hernia incisional en Suecia 2002. *Hernia* 2006;10: 258-61.
243. Sauerland S, Korenkov M, Kleinen T, Pablo A. La obesidad es un factor de riesgo de recidiva después de la reparación de la hernia incisional. *Hernia* 2004;8:42-6
244. M. Kurihara, H. Kataoka, A. Ishikawa, and R. Endo. Latest treatments for spontaneous pneumothorax. *General oracic and Cardiovascular Surgery*, vol. 58, no. 3, pp. 113–119, 2010.
245. V. Karacam, A. Onen, A. Sanli et al. Prevention of pleural adhesions using a membrane containing polyethylene glycol in rats. *International Journal of Medical Sciences*, vol. 8, no. 5, pp. 380–386, 2011.
246. V. Getman, E. Devyatko, E. Wolner, S. Aharinejad, and M. R. Mueller. Fleece bound sealing prevents pleural adhesions. *Interactive Cardiovascular and oracic Surgery*, vol. 5, no. 3, pp. 243–246, 2006.
247. T. Nakamura, K. Suzuki, T. Mochizuki, Y. Ohde, H. Kobayashi, and F. Toyoda. An evaluation of the surgical morbidity of polyglycolic acid felt in pulmonary resections. *Surgery Today*, vol. 40, no. 8, pp. 734–737, 2010.
248. S.-H. Chen, M.-J. Chen, Y.-C. Chang, W.-H. Chang, S.-C. Shih, and C.-W. Chang. Adhesional small-bowel obstruction in the absence of previous abdominal operations. *International Journal of Gerontology*, vol. 4, no. 4, pp. 202–204, 2010.
249. M. L. Kendrick. Partial small bowel obstruction: clinical issues and recent technical advances. *Abdominal Imaging*, vol. 34, no. 3, pp. 329–334, 2009.
250. V. H. González-Quintero and F. E. Cruz-Pachano. Preventing adhesions in obstetric and gynecologic surgical procedures. *Reviews in Obstetrics and Gynecology*, vol. 2, no. 1, pp. 38–45, 2009.
251. D. Robertson, G. Lefebvre, N. Leyland et al. Adhesion prevention in gynaecological surgery: no. 243, June 2010, *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, vol. 111, no. 2, pp. 193–197, 2010.

252. C. B. Iglesia, D. E. Fenner, and L. Brubaker. The use of mesh in gynecologic surgery. *International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction*, vol. 8, no. 2, pp. 105–115, 1997.
253. H. Ellis, B. J. Moran, J. N. ompson et al. Adhesion-related hospital readmissions after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study. *Lancet*, vol. 353, no. 9163, pp. 1476–1480, 1999.
254. W. W. Vrijland, J. Jeekel, H. J. van Geldorp, D. J. Swank, and H. J. Bonjer, Abdominal adhesions: Intestinal obstruction, pain, and infertility. *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques*, vol. 17, no. 7, pp. 1017–1022, 2003.
255. N. F. Ray, W. G. Denton, M. amer, C. Scott, C. Henderson, and S. Perry. Abdominal adhesiolysis: inpatient care and expenditures in the United States in 1994. *Journal of the American College of Surgeons*, vol. 186, no. 1, pp. 1–9, 1998.
256. K. Ceonzo, A. Gaynor, L. Sha er, K. Kojima, C. A. Vacanti, and G. L. Stahl, Polyglycolic acid-induced inflammation: role of hydrolysis and resulting complement activation. *Tissue Engineering*, vol. 12, no. 2, pp. 301–308, 2006.
257. K. Funai, K. Suzuki, K. Shimizu, and N. Shiiya. Ablation of weak emphysematous visceral pleura by an ultrasonically activated device for spontaneous pneumothorax. *Interactive Cardiovascular and oracic Surgery*, vol. 12, no. 6, pp. 308–311, 2011.
258. Y.Hirasaki,M.Fukunaga,A.Kidokoroetal. Developmento fa novel antiadhesive material, alginate akes, ex vivo and in vivo. *Surgery Today*, vol. 41, no. 7, pp. 970–977, 2011.
259. W.J.Cho,S.H.Oh, I.G.Kim, C.S.Lee, and J.H.Lee.Prevention of postsurgical tissue adhesion by a bilayer membrane consisting of adhesion and lubrication layers. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, vol. 7, no. 1, pp. 49–56, 2010.
260. A. A. Chaturvedi, R. M. Lomme, T. Hendriks, and H. van Goor. Prevention of postsurgical adhesions using an ultrapure alginate-based gel. *The British Journal of Surgery*, vol. 100, no. 7, pp. 904–910, 2013.
261. Y. Deng, J. Ren, G. Chen, G. Li et al. Evaluation of prolypylene mesh coated with biological hidrogels for temporary closure of open abdomen. *Journal of Biomaterials Applications*. 2016, 0 (0), 1-13.
262. M. Matoba, A. Hasimoto, A. Tanzawa, T. Orikasa, J. Ikeda, Y. Iwame et al. “Prevention of polyglycolic acid-induced peritoneal adhesions using alginate in a rat model”. *Biomed Res Int*. 2015. 2015: 403413.
263. Kathleen Ceonzo, Anne Gaynor, Lisa Shaffer, Koji Kojima, Charles A. Vacanti, Gregory L. Stahl. Polyglycolic acid induced inflammation: Role of hydrolysis and resulting complement activation. *Tissue Eng*. 2006 February ; 12(2): 301–308.

264. Kojima K, Bonassar LJ, Roy AK, Vacanti CA, Cortiella J. Autologous tissue-engineered trachea with sheep nasal chondrocytes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;123:1177.
265. Bonassar LJ, Sandy JD, Lark MW, Plaas AH, Frank EH, Grodzinsky AJ. Inhibition of cartilage degradation and changes in physical properties induced by IL-1beta and retinoic acid using matrix metalloproteinase inhibitors. *Arch Biochem Biophys* 1997;344:404.
266. Vakeva A, Agah A, Rollins SA, Matis LA, Li L, Stahl GL. Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion. Role of the terminal complement components and inhibition by anti-C5 therapy. *Circulation* 1998;97:2259. [
267. Wada K, Montalto MC, Stahl GL. Inhibition of complement C5 reduces local and remote organ injury after intestinal ischemia/reperfusion in the rat. *Gastroenterology* 2001;120:126.
268. Zhao H, Montalto MC, Pfeiffer KJ, Hao L, Stahl GL. Murine model of gastrointestinal ischemia associated with complement-dependent injury. *J Appl Physiol* 2002;93:338.
269. Zhou W, Farrar CA, Abe K, Pratt JR, Marsh JE, Wang Y, Stahl GL, Sacks SH. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 2000;105:1363.
270. Fitch JCK, Rollins SA, Matis LA, Alford BL, Aranki S, Collard CD, et al. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single chain antibody, C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery utilizing cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999;100:2499.
271. Gunatillake PA, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur Cell Mater* 2003;5:1.
272. Freed LE, Vunjak-Novakovic G, Biron RJ, Eagles DB, Lesnoy DC, Barlow SK, Langer R. Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Biotechnology (N Y)* 1994;12:689.
273. Marijnissen WJ, van Osch GJ, Aigner J, van d V, Hollander AP, Verwoerd-Verhoef HL, Verhaar JA. Alginate as a chondrocyte-delivery substance in combination with a non-woven scaffold for cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 2002;23:1511.
274. Y.Hirasaki,M.Fukunaga,A.Kidokoroetal. Developmento fa novel antiadhesive material, alginate akes, ex vivo and in vivo. *Surgery Today*, vol. 41, no. 7, pp. 970–977, 2011.
275. A. Blandino, M. Macías, and D. Cantero. Formation of calcium alginate gel capsules: in uence of sodium alginate and CaCl<sub>2</sub> concentration on gelation kinetics. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 88, no. 6, pp. 686–689, 1999.



276. S. Umezu, T. Hatta, and H. Ohmori. Fundamental characteristics of bioprint on calcium alginate gel. *Japanese Journal of Applied Physics*, vol. 52, no. 5, 2013.
277. S. Miyazaki, W. Kubo, and D. Attwood. Oral sustained delivery of theophylline using in-situ gelation of sodium alginate. *Journal of Controlled Release*, vol. 67, no. 2-3, pp. 275–280, 2000.
278. P. Aslani and R. A. Kennedy. Studies on diffusion in alginate gels. I. Effect of cross-linking with calcium or zinc ions on diffusion of acetaminophen. *Journal of Controlled Release*, vol. 42, no. 1, pp. 75–82, 1996.
279. S. F. Badylak and T. W. Gilbert. Immune response to biologic scaffold materials. *Seminars in Immunology*, vol. 20, no. 2, pp. 109–116, 2008.
280. P. M. Kou and J. E. Babensee. Macrophage and dendritic cell phenotypic diversity in the context of biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research—Part A*, vol. 96, no. 1, pp. 239–260, 2011.
281. S. Stadlmann, J. Pollheimer, K. Renner, A. G. Zeimet, F. A. Oner, and A. Amberger. Response of human peritoneal mesothelial cells to inflammatory injury is regulated by interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Wound Repair and Regeneration*, vol. 14, no. 2, pp. 187–194, 2006.
282. P. Balogh, A. Szabó, S. Katz, I. Liko, A. Patócs, and A. L. Kiss. Estrogen receptor alpha is expressed in mesenteric mesothelial cells and is internalized in caveolae upon Freund's adjuvant treatment. *PLoS ONE*, vol. 8, no. 11, Article ID e79508, 2013.
283. K. Y. Lee and D. J. Mooney. Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, vol. 37, no. 1, pp. 106–126, 2012.
284. Bellows CF, Alder A and Helton WS. Abdominal wall reconstruction using biological tissue grafts: present status and future opportunities. *Expert Rev Med Devices* 2006; 3: 657–675.
285. Loots MA, Kenter SB, Au FL, et al. Fibroblasts derived from chronic diabetic ulcers differ in their response to stimulation with EGF, IGF-I, bFGF and PDGF-AB compared to controls. *Eur J Cell Biol* 2002; 81: 153–160.
286. Werner S and Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003; 83: 835–870.
287. Pintucci G, Froum S, Pinnell J, et al. Trophic effects of platelets on cultured endothelial cells are mediated by platelet-associated fibroblast growth factor-2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Thromb Haemost* 2002; 88: 834–842.
288. Opalenik SR and Davidson JM. Fibroblast differentiation of bone marrow-derived cells during wound repair. *FASEB J* 2005; 19: 1561–1563.

289. Werner S, Krieg T and Smola H. Keratinocyte–fibroblast interactions in wound healing. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 998–1008.
290. Li J, Pan J, Zhang L, et al. Culture of hepatocytes on fructose-modified chitosan scaffolds. *Biomaterials* 2003; 24: 2317–2322.
291. Freyman T, Yannas I and Gibson L. Cellular materials as porous scaffolds for tissue engineering. *Progr Mater Sci* 2001; 46: 273–282.
292. Huebsch N, Lippens E, Lee K, et al. Matrix elasticity of void-forming hydrogels controls transplanted-stem-cell- mediated bone formation. *Nat Mater* 2015; 14: 1269–1277.
293. Dandan Zhang, Zhi Yuan (William) Lin, Ruoyu Cheng, Wei Wu, Jia Yu, Xin Zhao, et al. Reinforcement of transvaginal repair using polypropylene mesh functionalized with basic fibroblast growth factor. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 142 (2016) 10–19.
294. Y. Yang, T. Xia, W. Zhi, L. Wei, J. Weng, C. Zhang, X. Li, Promotion of skin regeneration in diabetic rats by electrospun core-sheath fibers loaded with basic fibroblast growth factor, *Biomaterials* 32 (2011) 4243–4254.
295. Y.R. Yun, J.E. Won, E. Jeon, S. Lee, W. Kang, H. Jo, J.H. Jang, U.S. Shin, H.W. Kim, Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration, *J. Tissue Eng.* (2010), 2010 218142.