



**GEL DE QUITOSANO INYECTABLE COMO BIOESTIMULADOR CUTÁNEO
EN RATAS *SPRAGUE DAWLEY*.**

Carmen Marichales¹, Reina Zerpa², Anajulia González³, Gladys Velazco³.

1. Odontólogo, Universidad de Los Andes. Mérida -Venezuela.

**2. Departamento de Odontología Preventiva y Social. Universidad de Los
Andes. Mérida-Venezuela.**

**3. Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular. Universidad de Los
Andes. Mérida-Venezuela**

Correspondencia: Reina Zerpa. Dirección: Departamento de Preventiva y Social. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Casona La Sierra, Calle 23 entre avenidas 2 y 3. Mérida (5101), Venezuela.

Tlf.: +58 (414) 737 8568 / +58 (274) 2402382

E-mail: od.reinazerpa@gmail.com

RESUMEN

El envejecimiento, las cicatrices y un sin número de defectos que se presentan en el rostro pueden repercutir de manera física y psicológica al paciente. Actualmente se ha hecho común el uso de los biomateriales de relleno orofacial. La industria farmacéutica cada año propone nuevos productos, sin embargo, la búsqueda del biomaterial ideal aún continúa. El quitosano es un biopolímero natural biocompatible y biodegradable que



presenta propiedades regenerativas. Se puede considerar una alternativa terapéutica para el envejecimiento y la pérdida tisular. Se planteó analizar el gel de quitosano inyectable como bioestimulador cutáneo en ratas *Sprague dawley*. Se realizó un estudio experimental en 43 ratas adultas macho divididas en: grupo A experimental (n=20 animales), grupo B control (n=20 animales) y grupo C o control/control (n=3 animales). El material se infiltró en el lomo de cada animal vía intradérmica. Al grupo A se le infiltró 0,05ml de gel de Quitosano, al grupo B 0,05ml de ácido hialurónico y al grupo C no se le infiltró ningún material. Se hizo seguimiento, a la cuarta y octava semana se realizó el sacrificio de 10 animales de los grupos A y B y 1 del grupo C para la toma de muestras histopatológicas. Se concluyó que el quitosano en gel inyectable no genera alteraciones en la conducta de los animales y produce la formación de un nódulo en el área infiltrada. Al exámen microscópico se comporta como un agente lesivo que produce una respuesta inflamatoria crónica reagudizada y una reacción tipo granuloma a cuerpo extraño.

PALABRAS CLAVE: quitosano, regeneración tisular, envejecimiento, ácido hialurónico

INJECTABLE CHITOSAN GEL AS A SKIN BIOSTIMULATOR IN *SPRAGUE DAWLEY* RATS.

ABSTRACT

Aging, scars and a number of defects that appear on the face can affect the patient physically and psychologically. Currently, the use of orofacial filling biomaterials has become common. The pharmaceutical industry proposes new products every year, however, the search for the ideal biomaterial still continues. Chitosan is a natural biocompatible and biodegradable biopolymer that exhibits regenerative properties. It



can be considered a therapeutic alternative for aging and tissue loss. It was proposed to analyze the injectable chitosan gel as a cutaneous biostimulator in Sprague dawley rats. An experimental study was carried out in 43 adult male rats divided into: experimental group A (n = 20 animals), control group B (n = 20 animals) and control / control group C (n = 3 animals). The material was infiltrated into the back of each animal via the intradermal route. Group A was infiltrated with 0.05 ml of chitosan gel, group B with 0.05 ml of hyaluronic acid and group C did not receive any material. Follow-up was done, at the fourth and eighth week, 10 animals from groups A and B and 1 from group C were sacrificed for taking histopathological samples. It was concluded that the injectable chitosan gel does not generate alterations in the behavior of the animals and produces the formation of a nodule in the infiltrated area. On microscopic examination, it behaves as a damaging agent that produces a chronic exacerbated inflammatory response and a foreign body granuloma-like reaction.

KEY WORD: chitosan, tissue regeneration, aging, hyaluronic acid

INTRODUCCIÓN

La piel puede presentar cambios característicos del envejecimiento, como depresiones dermo-epidérmicas, surcos y líneas de expresión marcadas causados por factores intrínsecos y extrínsecos (la acción de la luz solar, movimientos musculares, desorganización de las fibras colágenas y elásticas, pérdida de elasticidad de los tejidos, remodelación ósea, grasa y

cartilaginosa y la pérdida dental prematura); todos estos signos hacen que la región facial sea el exponente más notorio del envejecimiento.

En el tercio medio e inferior de la cara es donde se encuentra el mayor número de grupos musculares que sufren la acción de la gravedad, y es también la región con mayor dificultad para mantenerse firme; como consecuencia se forman a este nivel los signos más



graves de envejecimiento: arrugas, surcos pronunciados (nasogenianos, comisura labial), alteraciones del contorno mandibular, alteraciones del labio (filtrum plano y largo, boca triste, arrugas verticales, alteraciones del bermellón). Es por esto que en esta región de la cara es donde se realizan el mayor número de procedimientos estéticos, quirúrgicos y no quirúrgicos y también la región en la que está más indicado el empleo de biomateriales de relleno (1).

Los biomateriales son productos empleados para reproducir la función de tejidos vivos de forma segura, mecánicamente funcional y aceptable fisiológicamente, que son temporal o permanentemente implantado, cuya finalidad de restaurar el defecto existente y en algunos casos conseguir la regeneración tisular (2).

Los biomateriales inyectables se presentan en el área de la salud como una opción para la bioingeniería y se han utilizado como rellenos subdérmicos que aumentan el volumen perdido de la dermis y el tejido celular

subcutáneo, también para la reparación de defectos tisulares (3). Estos se clasifican en materiales reabsorbibles como el colágeno y el ácido hialurónico, semipermanentes como microesferas de ácido poliláctico y la hidroxiapatita cálcica en gel acuoso, y los materiales permanentes o no reabsorbibles como siliconas líquidas, microesferas de polimetacrilato, esferas de dextrano y geles de poliacrilamida (4). Estos últimos se encuentran en desuso ya que son la causa de reacciones adversas precoces y tardías, tales como reacciones de hipersensibilidad, infecciones, nódulos causados por distribución irregular del producto, necrosis tisular local, fibrosis del tejido, inflamación granulomatosa y migración de implantes (5). Lo anteriormente expuesto, hace que cada año la industria farmacéutica ponga en el mercado materiales novedosos, con el fin de disminuir al máximo los efectos secundarios. No obstante, la búsqueda del relleno ideal, aquel que tenga una duración razonable, fácil de obtener y de implantar, que sea seguro,



biocompatible, no tóxico, de comportamiento predecible y que favorezca la regeneración tisular, aún continúa.

Actualmente en la práctica clínica uno de los materiales reabsorbibles más utilizados en el campo de la estética facial es el Ácido Hialurónico (AH), un glicosaminoglicano constituido por residuos alternantes de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina. El AH es un polisacárido que se encuentra de forma natural en los seres humanos, representa el componente fundamental de la matriz extracelular de diversos órganos, tejidos, y articulaciones, también participa activamente en la estabilización de los tejidos (1), sin embargo, como material de relleno es altamente costoso.

Por su parte, el quitosano es un biopolímero de pH ácido compuesto por cadenas N-acetilglucosamina las cuales son reabsorbibles. Es de origen natural producto de la desacetilación de la quitina, un polisacárido que se encuentra en el caparazón de los crustáceos (6-8).

Además, el quitosano presenta un potencial e interesante valor económico, debido a sus versátiles propiedades biológicas y aplicaciones (biodegradable, biocompatible, no produce respuesta del sistema inmune y no tóxico), características que han estimulado su empleo en diversas aplicaciones biomédicas (9). También, se ha usado como medicamento tópico para heridas y quemaduras comprobando su efectividad antimicrobiana y cicatrizante (10) y como apósito del pie diabético estimula la reepitelización y cicatrización con excelentes resultados (11). Diversos autores refieren que es altamente útil para combatir entes patógenos, lesiones inflamatorias y ulcerosas en todo el cuerpo incluyendo cavidad bucal (12,13). Como membrana, promueve la regeneración osteomucosa guiada en alvéolos postextracción de terceros molares (12); en forma de biogel es útil para el acondicionamiento de los tejidos en pacientes con estomatitis subprotésica (13).



La evidencia clínica disponible sobre regeneración de los tejidos tratados con quitosano se atribuye a la propiedad de lograr la migración de fibroblastos capaces de estimular y liberar factores de crecimiento que favorezcan la cicatrización y regeneración (12,13). De esta manera, su capacidad de formar andamios ha permitido su aplicación dentro de los campos de bioingeniería tisular, debido a sus propiedades mecánicas como a su baja tasa de biodegradación (5). Los andamios de quitosano pueden servir para mantener, reforzar y en algunos casos organizar la regeneración tisular; como matriz puede ser utilizada para liberar materiales bioactivos o influenciar directamente el crecimiento celular (14-16).

Se ha determinado que las unidades estructurales del quitosano, la glucosamina y la N-acetilglucosamina, están presentes en el cuerpo humano formando parte de la matriz extracelular de los tejidos. Normalmente los glicosaminoglicanos se encuentran unidos a proteínas centrales y forman los proteoglicanos, los cuales tienen la

función de organizar y dar funcionamiento adecuado a la matriz extracelular (16).

Luego de una extensa revisión de la literatura, no se ha encontrado evidencia del empleo de quitosano disuelto en ácido acético como gel inyectable, forma física que podría considerarse idónea para su infiltración. Es por ello que la presente investigación pretende analizar el gel de quitosano inyectable como material para el relleno subdérmico y bioestimulante celular en modelos animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

El diseño de este estudio fue experimental (17) donde se observó el efecto del gel de quitosano sobre la bioestimulación cutánea en 43 ratas machos adultos de la línea *Sprague dawley*, con peso corporal entre 280 y 350 grs., provenientes del Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA), de línea no consanguínea. Durante el periodo del experimento, las ratas fueron alojadas en jaulas metálicas diseñadas para tal fin (a razón de cinco

animales por jaula), alimentados con ratarina granulada y agua *ad libitum* o libre demanda, bajo condiciones ambientales de laboratorio específicas controladas (luz, humedad, ventilación, ruidos y temperatura).

Las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en tres grupos, dos grupos conformados por veinte animales cada uno y un grupo compuesto por tres animales, asignados a cada uno de los siguientes tratamientos:

Grupo A o experimental (quitosano $n=20$): a los animales de este grupo se les infiltró 0,05ml de gel de quitosano inyectable al 0,05%.

Grupo B o control (ácido hialurónico $n=20$): donde a cada animal se le infiltró 0,05ml de ácido hialurónico y

Grupo C o control/control ($n=3$): este grupo no se sometió a ningún tratamiento y se mantuvo bajo las mismas condiciones ambientales y de alimentación que los demás grupos de estudio.

El procedimiento se realizó en tres etapas: la primera etapa estuvo conformada por la prueba piloto, la segunda etapa se desarrolló la división de los grupos y el experimento y la tercera etapa estuvo constituida por la recolección de las muestras (Figura 1).

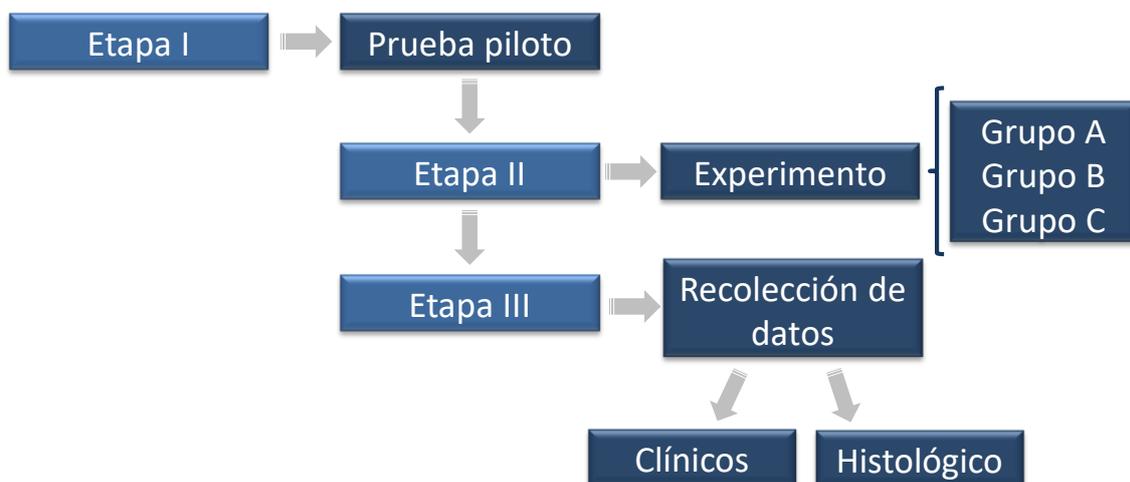


Figura 1: Estrategia general del procedimiento.

Los animales fueron previamente anestesiados con 0,4ml de una solución preparada con ketamina (100mg/kg) y xylacina (5mg/kg) por vía intraperitoneal (Figura 2a y 2b), posteriormente y luego de confirmada la anestesia del animal, se procedió a rasurar el lomo de cada rata (Figura 2c), y se ubicó el área de infiltración en cada animal por medio de medidas

específicas: zona media del lomo un centímetro por debajo de ambas escápulas, cuidando que el área de trabajo sea la misma en todos los animales y tomando en cuenta que es un área de poco rose y difícil acceso para el animal, a fin de evitar lesiones u otras manifestaciones clínicas ajenas al estudio.

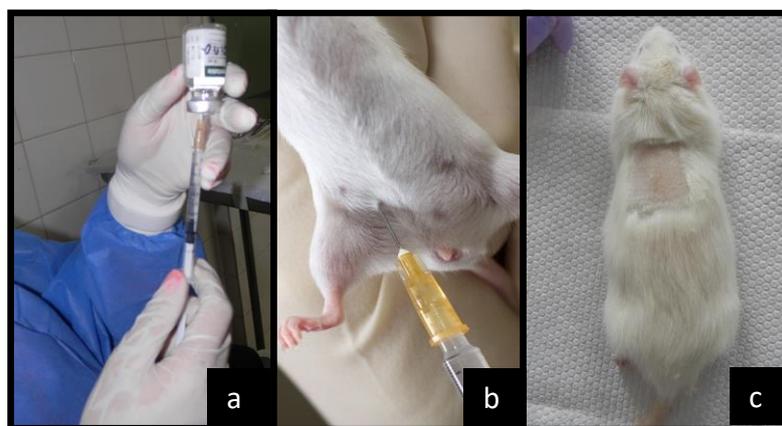


Figura 2: Procedimientos preoperatorios a) Jeringa de anestésico cargada con ketamina-xylacina, b) Inyección intraperitoneal de anestesia, c) Área de infiltración rasurada.

A continuación, con una aguja calibre 26 por vía intradérmica mediante la técnica de retroinyección y con la finalidad de despejar la dermis, se procede a introducir en la piel 3mm de la aguja con el bisel hacia arriba (Figura 3a); luego se realizó la infiltración a cada rata del grupo A con 0,05ml de quitosano en gel al 0,05%. Posteriormente a cada animal del grupo B se le infiltró 0,05ml de AH y por último a los animales del grupo C no se les aplicó ningún biomaterial. Adicionalmente se procedió a marcar y medir el volumen del área de infiltración la cual fue

aproximadamente 1cm² (Figura 3b y 3c) con tinta indeleble, además de la identificación de cada animal para su control; al grupo A con aros en la cola color azul y negro, al grupo B con aros en la cola color morado y rojo, y el grupo C no se les realizó ninguna marca. Finalmente, luego de la reposición de la anestesia cada animal fue devuelto a su jaula de mantenimiento correspondiente (Figura 3d) y fueron vigilados por el personal técnico del BIOULA. No se hizo uso de medicación analgésica ni antiinflamatoria, ya que es un procedimiento mínimamente invasivo.

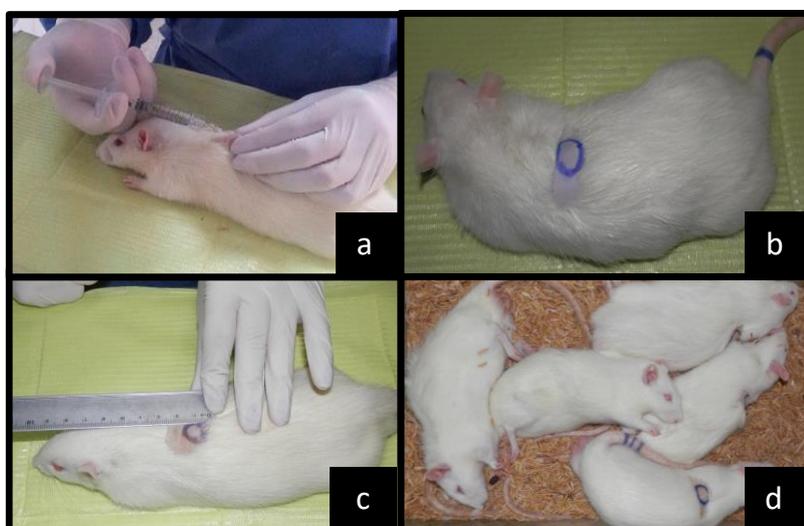


Figura 3: Procedimiento operatorio: a) Infiltración del material, b) Identificación del área infiltrada en el animal, c) Medición del área infiltrada, d) Reposición de la anestesia en su respectiva jaula.

A todos los animales se les realizó seguimiento semanal, con el fin de evaluar cambios clínicos. A la cuarta semana se examinó clínicamente los tejidos inyectados, se hizo registros fotográficos, y se realizó el sacrificio de 10 animales del grupo A, 10 animales del grupo B, y 1 animal del grupo C, con una sobredosis de Tiopental (1ml) vía intraperitoneal; posteriormente se procedió a rasurar el animal y la delimitación del área infiltrada (Figura 4a), luego con una hoja #11 de bisturí se

realizaron varias incisiones de tipo lineal poco profunda solo de espesor cutáneo y respetando el plano muscular, (Figura 4b) finalmente se realiza la escisión quirúrgica de la muestra del tejido infiltrado (Figura 4c), y se fijó en formol al 10%, para la realización del respectivo análisis histopatológico. Este procedimiento se repitió a la octava semana, sacrificando 10 animales del grupo A, B y 1 animal del grupo C, tomando la muestra para los análisis respectivos.

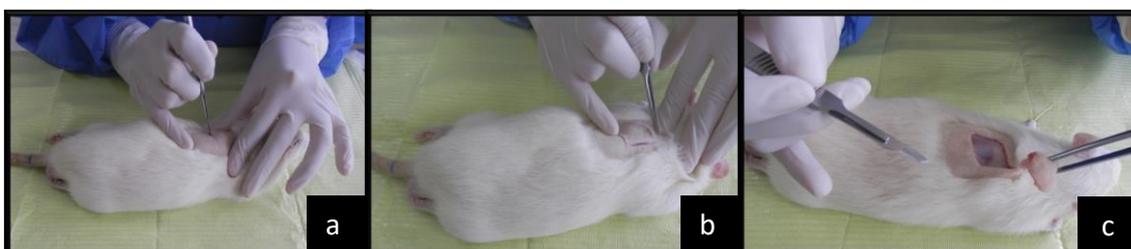


Figura 4: Procedimiento de la toma de muestra, a) Rasurado y delimitación del área, b) Incisión del área infiltrada, c) Escisión total del área infiltrada.



Las consideraciones bioéticas de esta investigación se rigieron bajo el código de bioética y bioseguridad vigente, establecido por el Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias a través del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT). Estas normas expresan que los animales de experimentación, deben ser tratados como organismos vivos sensibles, para evitar o minimizar cualquier incomodidad, sufrimiento o dolor. Adicionalmente este proyecto de investigación fue aprobado por la Comisión de Bioética del Bioterio de la Universidad de los Andes, bajo el código CEBOULA/044.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Posterior a la inoculación del material se llevó a cabo las evaluaciones clínicas semanales, luego se realizó el sacrificio de 10 animales del grupo A, 10 animales del grupo B y 1 animal del grupo C respectivamente para las cuatro y ocho semanas; consecutivamente al sacrificio se realizaron las evaluaciones

histopatológicas correspondientes. Cabe destacar que al realizar la fase operatoria un animal del grupo control falleció por sobredosis de anestésico quedando 19 muestras para este grupo.

ESTADO GENERAL, DOLOR GENERAL Y DOLOR A LA PALPACIÓN.

Al realizar la primera evaluación a las 4 semanas, se pudo observar que en el grupo tratado con gel de quitosano el total de los animales tuvo un comportamiento típico y ausencia de dolor general, sin embargo a las 8 semanas se pudo observar que un 20% de los animales presentaron una conducta atípica comportándose de manera agresiva pero sin presencia de dolor. Por otra parte los animales tratados con AH evaluados no presentaron ninguno de estos signos al momento de la observación. Sin embargo a la 8 semanas se observó presencia de dolor a la palpación del área infiltrada en el 20% de los animales del grupo experimental. Esto

coincide con los estudios realizados por Maceda y cols¹⁸ y Duranti y cols¹⁹ refiriendo que el AH es bien tolerado y eficaz en la terapia de remplazo de tejido blandos, con pocas complicaciones.

Sin embargo, al realizar las evaluaciones posteriores se observó que empezaron a aparecer reacciones del tejido a cuerpo extraño lo que nos refiere que luego de las 8 semanas

postimplantación el quitosano empezó a comportarse como un agente nocivo, a diferencia de lo expuesto por Fuentes y cols.²⁰ y Martínez y cols.²¹ donde observaron la biocompatibilidad del quitosano con los tejidos dérmicos y su alta tasa de biodegradabilidad.

ERITEMA

Al realizar las evaluaciones clínicas a la cuarta semana, se registró presencia de eritemas en el grupo A, como se observa en la Figura 5.

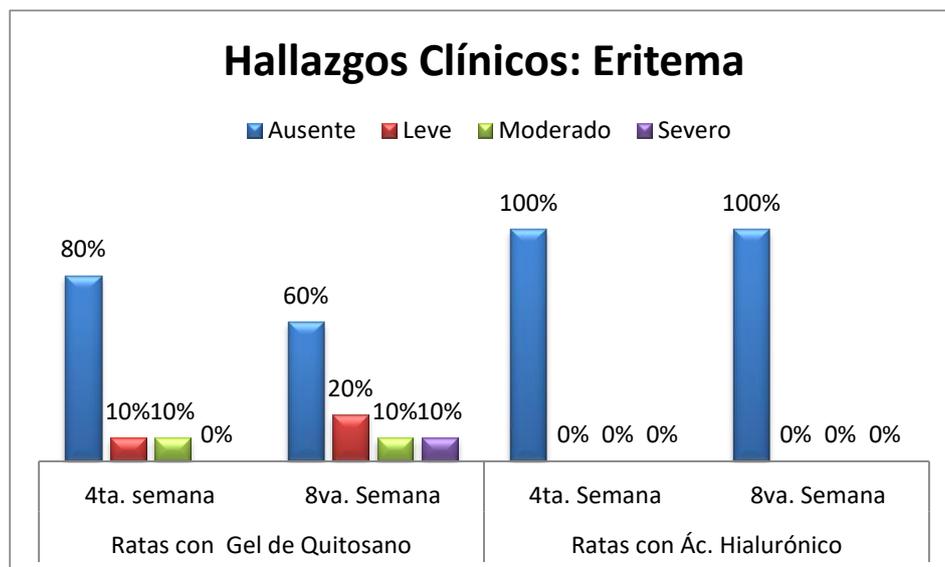


Figura 5: Distribución porcentual de los hallazgos clínicos acerca del eritema en los animales infiltrados con quitosano y ácido hialurónico.



PRURITO

En el 70% de los animales infiltrados con quitosano el prurito estuvo ausente en la primera evaluación. Sin embargo, se encontró que el 30% de los animales presentaron prurito de leve (20%) a moderado (10%). En la segunda evaluación, este grupo siguió presentando el mismo síntoma en un 30%, lo que difiere con el estudio realizado por Vandevord y cols. (22), indicando que el quitosano posee una muy baja incidencia de reacciones adversas, demostrando que tiene un alto grado de incompatibilidad. En balance, los animales infiltrados con AH no presentaron prurito, coincidiendo con Tapia y cols. (23) quienes refieren su capacidad de formar parte de la estructuración de la matriz extracelular, de la homeostasis y de la migración celular lo que lo hace un material altamente biocompatible con los tejidos dérmicos.

EDEMA

En los animales tratados con quitosano, al realizar la evaluación a las cuatro

semanas se observó que un 30% presentó un edema leve. En la siguiente evaluación no se observó presencia de edema. En cuanto al grupo tratado con AH se observó la presencia de edema leve en el total de la muestra a la cuarta semana postimplantación, desapareciendo a la octava semana.

Khan y cols. (24) concluyeron que el quitosano disuelto en ácido láctico era más recomendable para la aplicación dérmica y curación de heridas. Esto guarda cierta relación con los resultados hallados en la cuarta semana considerando que el quitosano utilizado en nuestro estudio se encuentra disuelto en ácido acético, se puede inferir que este causó alguna reacción en los tejidos infiltrados produciéndose así el edema.

NÓDULO

Al realizar la respectiva evaluación a la cuarta semana luego de haber implantado el material se evidencia que la totalidad de las muestras infiltradas con quitosano presentaron nódulo (Figura 6a y 6b) entre severo 70% y

moderado 30%, en la segunda evaluación a la octava semana todas las muestras seguían presentando nódulo (Figura 6c) pero en menor intensidad entre leve 60% y moderado 40%. No

obstante, podemos observar la diferencia existente en el grupo control tratado con AH, donde la presencia de nódulo siempre fue ausente en ambas evaluaciones clínicas (Figura 6d, 6e).

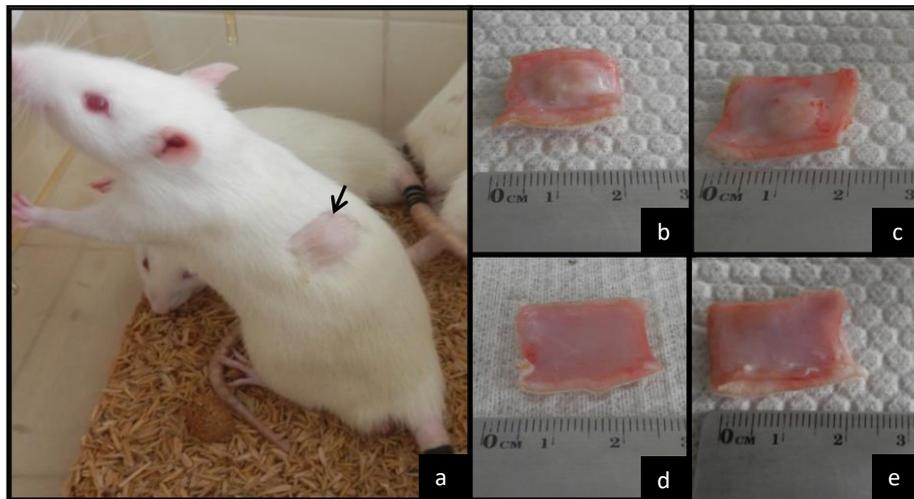


Figura 5: Presencia del nódulo. a) Nódulo en animal tratado con gel de quitosano, b) Muestra de tejido tratado con quitosano 4 semanas, c) Muestra de tejido tratado con quitosano 8 semanas, d) Muestra de tejido infiltrado con AH 4 semanas y e) Muestra de tejido infiltrado con AH 8 semanas.

Se puede apreciar que el área infiltrada con quitosano tuvo una respuesta poco favorable, actuando como un agente lesivo. Esto difiere con los estudios realizados por Kim y cols. (25), Vandervord y cols (22) y Tan y cols. (26), quienes concluyeron que el quitosano tiene propiedades novedosas

de biocompatibilidad, biodegradabilidad y antimicrobianas, lo que sugiere que es un candidato prometedor como material de apoyo para aplicaciones de ingeniería tisular.

Lesión ulcerosa

Para la evaluación de este ítem se tomó en cuenta la integridad de la epidermis (Figura 7). A las cuatro semanas se observó que el 30% de los animales del grupo A presentaron lesiones ulcerosas moderadas. No obstante, al realizar la evaluación a las ocho semanas este

hallazgo había remitido en un 20% , solo el 10% presentó úlceras moderadas. En cuanto al grupo B, no se encontraron manifestaciones de lesiones ulcerosas durante las evaluaciones clínicas postimplantación del material.



Figura 7: Lesión ulcerosa (flecha) en el área infiltrada con gel de quitosano.

Se infiere que las ulceraciones pudieron ser producto del volumen de material infiltrado en la piel de los animales produciendo presión en los tejidos, sin embargo, existen agentes externos que también pueden ser atribuibles a dicha lesión, como la hojilla para rasurar durante la fase operatoria. También el

comportamiento agresivo observado en determinado momento entre los animales, pudo haber causado las ulceraciones.

Lo anteriormente descrito difiere con Sari y cols. (27), quienes ejecutaron un estudio de membranas de quitosano para la reparación de úlceras labiales en



ratas *Sprague dawley*, donde concluyeron que la membrana de quitosano aceleraba el proceso de reparación de la úlcera labial por su efecto en la formación de vasos sanguíneos y fibras colágeno.

PRINCIPALES HALLAZGOS

HISTOPATOLÓGICOS

OBTENIDOS EN LOS ANIMALES

TRATADOS CON ÁCIDO

HIALURÓNICO.

En lo que respecta a los animales tratados con AH encontramos como principales hallazgos la presencia de TC denso homogéneo, con ausencia de respuesta inflamatoria, donde nunca hubo tejido de granulación y por lo tanto no hubo reparación del tejido, se

observó inducción celular, así como el desarrollo de nuevas células y fibras, es de importancia aclarar que no hubo respuesta inflamatoria aguda es decir nunca se reconoció el material como cuerpo extraño. Esto confirma que el AH, es uno de los biomateriales más confiables en el área de la medicina estética, ya que presenta un perfil alto de seguridad, al igual que biocompatibilidad favoreciendo el transporte de nutrientes y la interacción células matriz extracelular. A continuación, se puede observar de manera general la distribución porcentual de todos los hallazgos histopatológicos en los animales infiltrados con AH sacrificados a la cuarta y octava semana. (Figura 8 y 9)

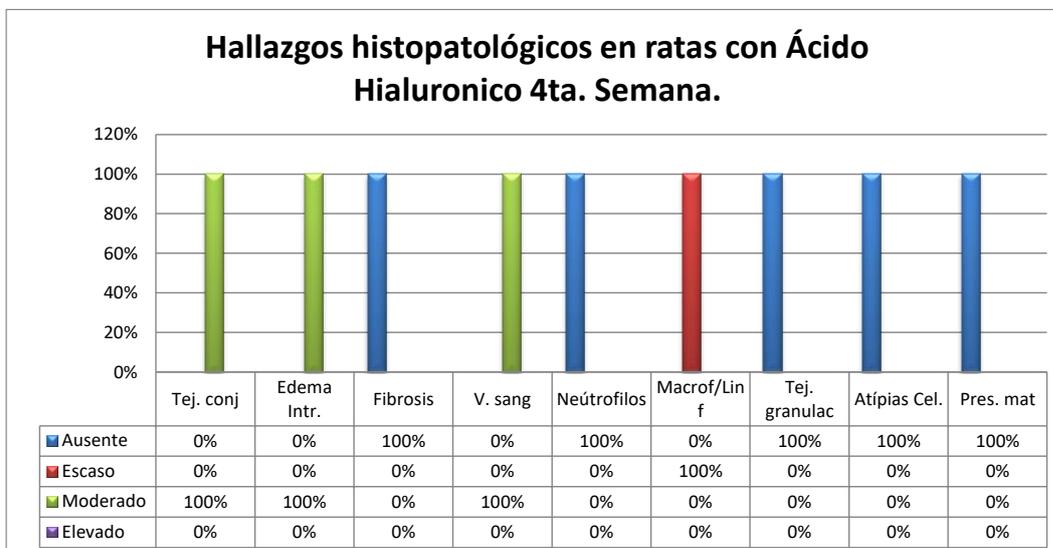


Figura 8: Hallazgos histopatológicos en los animales infiltrados con ácido hialurónico a las cuatro semanas post implantación del material.

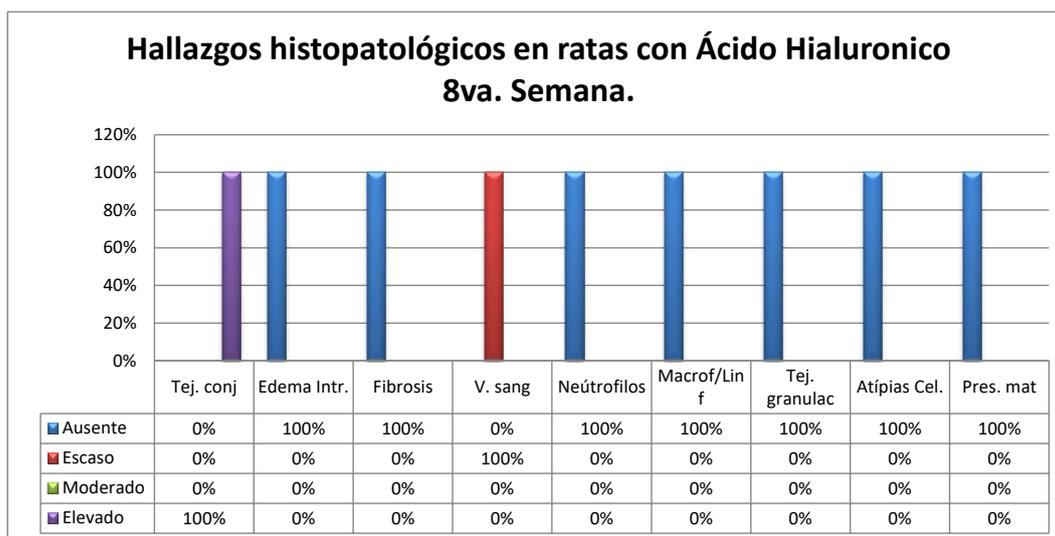


Figura 9: Hallazgos histopatológicos en los animales infiltrados con ácido hialurónico a las ocho semanas post implantación del material.

Principales hallazgos histopatológicos obtenidos en los animales tratados con gel de quitosano.

En resumen, los principales hallazgos histopatológicos obtenidos en el grupo tratado con quitosano fue el desarrollo de una respuesta inflamatoria crónica reagudizada severa con lesión tisular, necrosis, formación de cápsula que limita el material del tejido periférico con proceso inflamatorio tipo: granuloma cuerpo extraño. El TC y la proliferación celular difiere a los tejidos

circundantes además se encuentra alterado y desorganizado. Atendiendo a lo mencionado antes encontramos que los hallazgos histológicos de los tejidos experimentales muestran características patognomónicas de rechazo al biomaterial, además de reconocimiento como sustancia tóxica u agente lesivo. Seguidamente se puede observar los hallazgos histológicos generales de los tejidos tratados con quitosano en gel. (Figura 10 y 11)

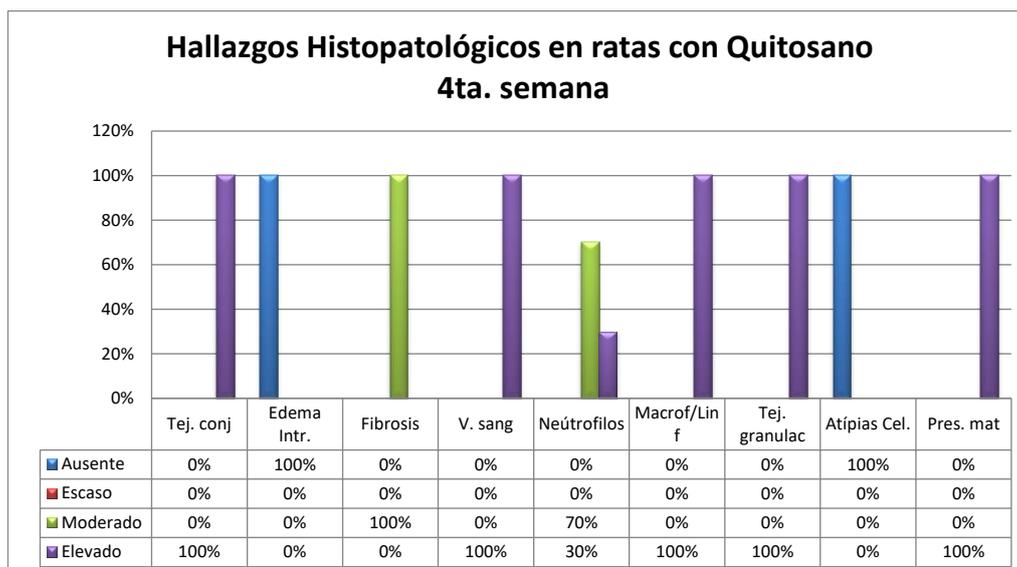


Figura 10: Hallazgos histopatológicos en los animales infiltrados con quitosano en gel a las cuatro semanas post implantación del material.

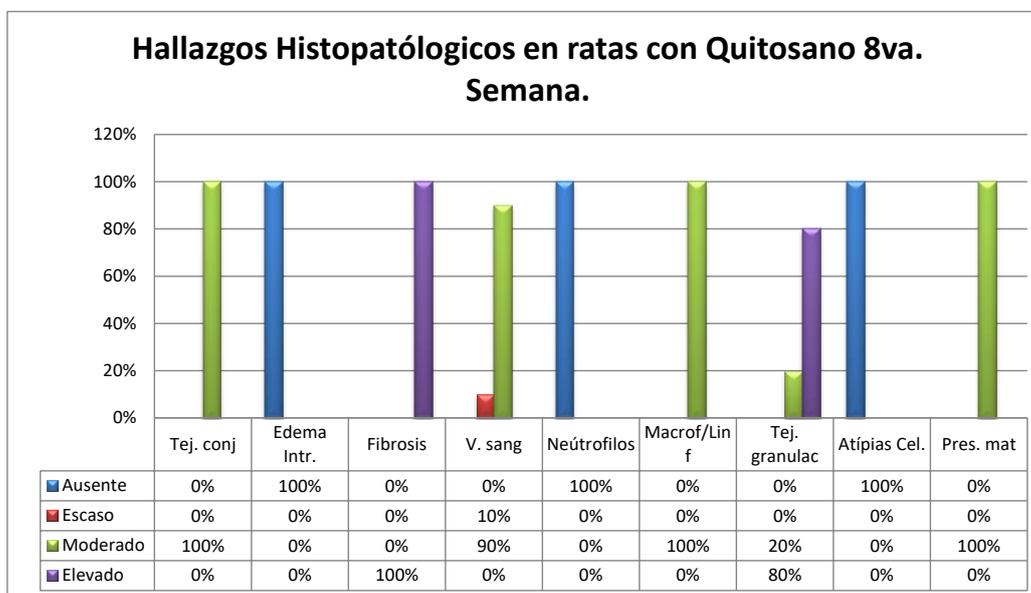


Figura 11: Hallazgos histopatológicos en los animales infiltrados con quitosano en gel a la octava semana post implantación del material.

Sin embargo, es importante resaltar que existen numerosos estudios similares (28-30), donde hacen uso del quitosano para la terapéutica e ingeniería de tejidos, donde el quitosano es aplicado en otros sustratos y en algunos casos en combinación con otros biomateriales u células donde los resultados difieren a los encontrados en esta investigación: Mi y cols. ³¹ evaluaron una membrana de quitosano para el recubrimiento de heridas abiertas en un modelo animal, los resultados muestran que las heridas de la piel en ratas cubiertas con la

membrana de quitosano presentaron la hemostasia y cicatrización rápidamente. El examen histológico confirmó que la tasa de epitelización fue aumentada, ausencia de infiltrado inflamatorio y la deposición de colágeno en la dermis estaba bien organizado. De igual forma, Li y cols (32) utilizaron un gel de quitosano y colágeno con oligoarginina para cicatrización de heridas en modelos animales, encontrando que este material aumenta la formación de tejido de granulación, aumenta la deposición de colágeno y promueve la



angiogénesis, además de presentar propiedades antibióticas, lo cual lo hace un material con alta eficacia terapéutica. Por otra parte, Shi y cols. (30) realizaron un andamio compuesto de quitosano y colágeno para la regeneración de un tipo de TC (cartílago) e ingeniería de los tejidos, el estudio histopatológico indica que el compuesto fue biocompatible y biodegradable. En este mismo orden de ideas, Mohan y cols (33) implementaron un hidrogel de quitosano y AH para reparación de cartílago de conejos, encontrando resultados a las 12 semanas.

Así mismo Tran y cols. (29) realizaron un gel compuesto de rutina y tiramina con derivados del quitosano, para evaluar la cicatrización *in vivo* mediante la inyección de hidrogeles en heridas dorsales de ratas, los resultados mostraron la formación de un nuevo epitelio más grueso y de tejido de granulación, que está más cerca del tejido epitelial original, concluyendo que los de geles inyectables a base de

rutina y quitosano aceleran el proceso cicatrizal de heridas.

Todos estos estudios previamente mencionados nos hacen especular que probablemente el éxito del quitosano depende de muchas variantes, para ejemplificar, tenemos las diversas presentaciones clínicas, la concentración del polímero, el grado de acetilación, el pH, la consistencia y fluidez, así como el tejido en que es usado u implantado; por lo tanto los resultados obtenidos en esta investigación en contraste con muchos otros obtenidos por diversos autores en la literatura, nos hace sintetizar que es posible ajustar las características físico-químicas del quitosano y así modificar las respuestas biológicas.

CONCLUSION

- El quitosano en gel inyectable no produce alteraciones en la conducta de los animales los cuales mantienen un estado general típico; sin embargo, produce la formación de un nódulo de consistencia firme en el

área infiltrada que desde el punto de vista histológico se comporta como un agente lesivo que produce una respuesta inflamatoria crónica reagudizada y una reacción tipo granuloma a cuerpo extraño.

- La bioestimulación celular producida por el quitosano fue desorganizada y exagerada, sin embargo, esto se atribuye al vehículo utilizado para gelificar el quitosano el cual estuvo constituido por ácido acético, y el desarrollo celular normal no puede ocurrir en un medio ácido tan caustico
- El AH no produce ninguna respuesta negativa clínica ni histológica en los tejidos, por el contrario, produce una respuesta positiva, ya que induce una correcta bioestimulación tisular y promueve la reorganización exitosa del tejido. El AH se presenta como un material seguro, biocompatible y biodegradable.

- Se recomienda realizar ensayos preclínicos haciendo uso de quitosano en gel inyectable realizando variaciones en el disolvente utilizado pudiendo usar ácido láctico en vez de ácido acético, con el fin de observar cambios y poder evaluar las respuestas biológicas de los tejidos.

AGRADECIMIENTOS

A los animales que dan su vida para fines científicos en pro de ayudar a la humanidad,

A la Prof. Rosalba Florido, por su importante aporte en el análisis histopatológico,

A la Dra. Yepsy Montero por su dedicación y ayuda incondicional durante la realización del experimento y en el manejo de los animales y

Al personal en general que labora en el Bioterio de la Universidad de los Andes por su gran colaboración.

REFERENCIAS

1. Erazo P, De Carvalho A. Relleno facial con ácido hialurónico:



- técnica de pilares y malla de sustentación. Principios básicos para obtener una remodelación facial. *Cir Plást Iberolatinoam.* 2009; 35 (3): 181-194
2. Lizarbe M. Sustitutivos de tejidos : De los biomateriales a la ingeniería tisular. *Rev R AcadCiencExactFísNat.* 2007; 101(1):227-249
 3. Ayarza J. Obtención de Rellenos Subdérmicos a partir de Ácido Hialurónico y Fibroblastos en Ratas Wistar. Colombia. Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de especialista en Dermatología. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Interna División Especializada en Dermatología Bogotá. 2012.
 4. Rodríguez E. La elección del material de relleno. Madrid. España. Servicio de Dermatología Cosmética. Hospital Sur. Alcorcón. *Piel.* 2007;22(10):481-2.
 5. Serrano-Grau P, Mascaró-Galy JM, Iranzo P, Navarra E, Ferrando J. Productos de relleno inyectable en dermocosmética, tipos y efectos secundarios. *Med Cutan IberLat Am.* 2007; 35(5): 209-218.
 6. Sánchez A, Sibaja M, Vega J, Madrigal S. Síntesis y caracterización de hidrogeles de Quitosano obtenido a partir del camarón langostino (pleuroncodesplanipes) con potenciales aplicaciones biomédicas. *ReviberAm Polím.* 2007; 8(4)
 7. Tianhong D. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011; 9(7): 857–879.



8. Jun Jie W. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. *IntJNanomedicine* 2011;6 : 765–774.
9. DhanikulaA, PanchagnulaR. Development and characterization of biodegradable chitosan films for local delivery of paclitaxel. *AAPS J.* 2004; 6 (3): 27.
10. Jayachandran V. Chitosan composites for bone tissue engineering-an overview. *Marine drugs.*2010; 8: 2252-2266.
11. Velazco G. Apósitos de quitosano para el tratamiento de pie diabético. *Avances en Biomedicina* 2012;1(1).
12. Suárez D. Regeneración osteomucosa con membrana de quitosano: reporte de un caso. *Rev Eur Odonto Estomatol.* 2011; 18(33):39.
13. Suárez D. Biogel de quitosano a partir de la desacetilación termoalcalina de conchas de camarón propuesta para el de la estomatitis subprotésica. *Rev Odonto Los Andres.*2009; 4(2).
14. Rojas O, Moya M, Sibaja M, Ruepert C, Vega-Baudrit JR. Estudio de la liberación controlada de plaguicidas incorporados en hidrogeles de ácido itacónico. *RevIberoamerPolím.*2004; 5(3), 133-43
15. Rohindra D, Nand AV, Khurma JR, Swelling properties of chitosan hydrogels.SPJNAS. 2004; 22(1): 32-35.
16. Abram P. Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones.Programa CYTED, CIAD. Perú, Fondo Editorial, 2004.
17. Arias F. El proyecto de investigación. Inducción a la metodología científica. 5ta ed. Caracas, Venezuela. Editorial Episteme; 2006.



18. Maceda S, Blancas R. Rejuvenecimiento facial volumetrico con ácido hialuronico. Cirugia plastica. 2010; 20(3): 133-139
19. Duranti F, Salti G, Bovani B. Inyectable hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. Dermatologic surgery. 2000; 24(12): 1317-1325
20. Fuentes L, De Abram A. Preparación, caracterización y evaluación de películas de quitosano provenientes de calamar gigante para uso médico. Rev Soc Quim Perú. 2009; 75(1): 3-11
21. Martínez H, Escobedo A, Vázquez A, Sol M. Elaboración de un gel biodegradable a base de quitosano con efecto cicatrizante. Rev virtual pro. 2013; 138 (5): 105-120.
22. Vandervord P, Matthew J, Desilva S, Mayton L, Wu B, Wooley P. Evaluation of the biocompatibility of a chitosan scaffold in mice. Journal of biomedical materials research. 2002; 59 (3): 585-590.
23. Tapia A, Fuentes E. el ácido hialuronico y sus aplicaciones en dermatologia. Acta dermosifiliorg. 2000; 89(99): 435-43.
24. Khan T, Peh K, Ch'ng H. Mechanical, Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan films for Wound Dressing. J Pharm Pharmaceut Sci. 2000; 3(3): 331-311.
25. Kim I, Seo S, Moon H, Park I, Kim B, Cho C. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. Biotechnology Advances. 2008; 26(1): 1-21.
26. Tan H, Chu C, Payne K, Marra K. Injectable in situ forming

- biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*. 2008; 10 (16): 2499-2507.
27. Sari A, Sari F, Dewi A, Nuryanti A. The effect of chitosan-gelatin membrane on angiogenesis and collagen density in labial ulceration healing. *Indon JDent Res*. 2013; 132(13): 132-138.
28. Mi F, Shyu S, Wu Y. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. *Biomaterials*. 2001; 22(2):165-173.
29. Tran N, Joung Y, Lih E, Park K. In situ forming and rutin-releasing chitosan hydrogels as injectable dressings for dermal wound healing. *Biomacromolecules*. 2011; 12(8): 72-80.
30. Shi D, Cai D, Zhou C, Rong L, Wang K, Xu Y. Development and potential of a biomimetic chitosan/ type II collagen scaffold for cartilage tissue engineering. *Chin Med J*. 2005; 118 (17): 1436-1443.
31. Mi F, Shyu S, Wu Y. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. *Biomaterials*. 2001; 22(2):165-173.
32. Li M, Han M, Sun Y, Hua Y, Chen G, Zhang L. Oligoarginine mediated collagen/chitosan gel composite for cutaneous wound healing. *Int Biol Macromol*. 2019;122:1120-27. DOI: 10.1016/j.ilbiomac.2018.09.061
33. Mohan N, Mohanan PV, Sabareeswaran A, Nair P. Chitosan-Hyaluronic acid hydrogel for cartilage repair. *Int J Biol Macromol*. 2017; 104: 1936-



ACTA BIOCLINICA

Original

Marichales, C y Col

Volumen 11, N° 21, Enero/junio 2021

Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

45. DOI:
10.1016/j.ilbiomac.2017.03.142