

# CÉLULAS MADRE ADULTAS COMO OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA PACIENTES ADULTOS CON QUEMADURAS QUE COMPROMETEN MÁS DEL 50% DE LA SUPERFICIE CORPORAL TOTAL<sup>1</sup>

## ADULT STEM CELLS AS A THERAPEUTIC OPTION IN A MASSIVE BURN PATIENT ADULT POPULATION WITH COMPROMISE OF MORE THAN 50% OF THE BODY SURFACE AREA

<sup>2</sup> Luisa Fernanda Torres

### Resumen

**Objetivo.** Determinar los beneficios de la terapia celular con células madre adultas como tratamiento para pacientes con pérdidas extensas de piel debido a quemaduras que comprometen más del 50% de la superficie corporal, en comparación con los beneficios del injerto autólogo de piel.

**Materiales y métodos.** Para esta revisión de tema, se hizo una búsqueda exhaustiva en Pubmed y otras bases de datos tales como: SpringerLink, Ovid y SciELO, entre otras, de estudios analíticos observacionales, experimentales y descriptivos, sobre la terapia con células madre para la regeneración de piel y sobre el injerto autólogo de piel, de manera independiente, para compararlos entre sí.

Se seleccionaron artículos que evaluaban una muestra poblacional adulta de un rango de edad de 21 a 59 años, descartando aquellos artículos que estudiaron una población infantil.

### Abstract

**Objective:** To evaluate the benefits of stem cell therapy for skin regeneration and to compare it with the benefits of autologous skin grafting, in a massive burn patient population with compromise of more than 50% of the body surface area

**Material and methods:** An exhaustive search through PubMed and other databases such as SpringerLink, Ovid and SciELO was made looking for observational analytical studies, experimental and descriptive studies about stem cell therapy for skin regeneration and autologous skin grafting independently to compare them.

Articles assessing an adult population sample of an age range of 21-59 years discarding items that studied a child population.

Studies of United States and China were selected to be leading research on the subject, also studies of Latin American countries such as Chile and Colombia in the

Recibido el 04/03/2015

Aprobado el 02/06/2015

1. Artículo de revisión

2. Médica, Universidad El Bosque. lui09t@gmail.com

Se incluyeron estudios de todos los países, en especial Estados Unidos y China por ser líderes de investigación sobre el tema, y países de Latinoamérica como Chile y Colombia, de los últimos 10 años. Para establecer los beneficios de cada procedimiento y obtener los resultados comparativos, se tuvo en cuenta el tiempo requerido por el paciente desde el inicio de cada procedimiento hasta obtener la regeneración de la piel, el porcentaje de cumplimiento del tratamiento, el número de complicaciones y su gravedad, la disminución de la morbilidad, los costos, el número de intervenciones quirúrgicas y el resultado final de la calidad de la piel regenerada, en cuanto a elasticidad, grosor y estética.

**Resultados.** Se obtuvo información limitada sobre la terapia celular con células madre para la regeneración de piel, 24 artículos sobre colocación del autoinjerto de piel con las características específicas de la población descritas y 107 artículos utilizados como referencia para el marco teórico sobre células madre como equivalentes cutáneos. Se obtuvo como resultado que la terapia celular con células madre es un procedimiento caro y laborioso, considerado como excelente opción de tratamiento para pacientes extensamente quemados y con limitaciones para el injerto autólogo de piel.

**Conclusión.** Por la variación del diseño de los diferentes estudios evaluados y la limitación de la información publicada debida a lo novedoso del tema en el ámbito científico, resulta difícil determinar los beneficios de este procedimiento. Sin embargo, la similitud en los resultados obtenidos en los estudios, revela la gran utilidad de la terapia con células madre en pacientes con grandes quemaduras, comparada con el injerto autólogo de piel.

**Palabras clave:** células madre, quemaduras extensas, regeneración de piel, terapia celular, autoinjerto de piel, injerto de piel.

## INTRODUCCIÓN

Con el incremento de los accidentes y lesiones que causan quemaduras con pérdidas extensas de piel en Colombia (1), y las limitaciones que presentan estos pacientes durante el tratamiento para la regeneración de la piel debido al compromiso corporal que presentan, surge el interés de buscar una alternativa de tratamiento para este tipo de quemaduras.

Actualmente, en Colombia, el manejo de estos pacientes es el injerto autólogo de piel que consiste en

last 10 years were included. The next items were taken into account to establish the benefits of each procedure and obtain comparative results: the time required by the patient from the beginning of each procedure until the skin regeneration, the percentage of compliance of each procedure, the number of complications and gravity, reduced morbidity, costs, number of surgical procedures and the end result of the quality of the regenerated skin.

**Results.** Limited information about stem cell therapy for skin regeneration was obtained, 24 articles of autograft skin with the specific characteristics of the population described were found and 107 articles more were used as references for the theoretical framework on stem cells and skin equivalents. It was obtained as a result that stem cells therapy is an expensive and laborious process, considered excellent treatment option for massive burn patients with limitations for autologous skin grafting.

**Conclusion:** By limited information published due to the novelty of the subject in the scientific field, it is difficult to determine the benefits of this procedure. However, the similarity in the results of the studies reveals the usefulness of stem cell therapy in patients with massive burns, compared with autologous skin grafting.

**Keywords:** Stem cells, massive burns, skin regeneration, cell therapy, mesenchymal stem cells, skin autograft, skin grafting.

tomar la capa más superficial de una zona de piel sana del cuerpo (zona donante), para implantarla en la zona afectada y, así, recuperar gran parte de la piel perdida por la quemadura, evitar pérdidas de agua corporal y disminuirla posibilidad de infección, factores que aumentan la mortalidad en estos pacientes (2,3). Al referirse a pacientes con pérdidas extensas de piel, se entiende que la zona donante se verá limitada: por lo tanto, el tratamiento disminuirá su eficiencia y la recuperación tomará mayor tiempo.

A nivel internacional se reconocen otras alternativas de manejo que aún no se han implementado en Colombia. Nos referimos específicamente a la terapia con células madre mesenquimales, obtenidas de tejido adiposo, médula ósea o tejido dental, entre otros tejidos del paciente, o de cultivos de queratinocitos, obtenidos de biopsias de piel y que, gracias a su contenido de células madre unipotenciales, pueden generar equivalentes de piel, y ser procesadas y nuevamente implantadas en la zona afectada para la regeneración de la piel (4-11).

La finalidad de esta revisión fue buscar los estudios de investigación realizados y la evolución de la utilización de la terapia con células madre para la regeneración de la piel como tratamiento para pacientes con pérdida de piel por quemaduras de más del 50% de la superficie corporal, y de forma comparativa con el tratamiento utilizado en la actualidad, encontrar las razones por las cuales podría llegar a ser una alternativa terapéutica.

## MARCO TEÓRICO

Las quemaduras son lesiones que afectan la integridad de la piel, consisten en pérdidas de substancia de la superficie corporal, producidas por distintos agentes (calor, frío, productos químicos, electricidad o radiaciones como la luz solar, la ultravioleta o la infrarroja) (12). Actualmente, se consideran un problema de salud pública en Colombia, debido al importante incremento de los accidentes y ataques con ácido en la última década en este país (13); la tasa de ataques con ácido en el 2011 fue de 1,84 por un millón de mujeres. Esta tasa pone a Colombia por encima de países como Pakistán, con una tasa de 0,96, y de Bangladesh, con 1,77 (14). De estos casos, el 25% presenta quemaduras de moderada a grave complejidad y requiere manejo hospitalario y, aproximadamente, 5.000 mueren (1,15).

Para evaluar la gravedad, el compromiso y la profundidad de la quemadura, se deben tener en cuenta la regla de los nueve de Wallace donde se clasifica el cuerpo por regiones que equivalen al 9% cada una (16, 17), y la clasificación de Converse-Smith que se denomina como primer, segundo y tercer grado (1,16).

Una vez clasificada la quemadura, se debe iniciar el protocolo de manejo de urgencias para estabilizar al paciente, según la guía establecida por el Ministerio de Salud de Colombia (16) y, una vez estable el paciente, se debe decidir el tratamiento definitivo (17, 18). Actualmente, el tratamiento más utilizado en Colombia para las quemaduras extensas de la piel, que comprometan

más del 50% de superficie corporal, es el injerto autólogo de piel, extraído de una zona donante sana que, en algunos casos se ve limitada y, por lo tanto, se reduce la probabilidad de extraer el injerto necesario para la regeneración total de la zona afectada (2,3).

Existen numerosos estudios internacionales sobre las células madre adultas de humanos y sus múltiples capacidades, aplicadas a la terapia celular regenerativa enfocada en la regeneración de la piel de zonas comprometidas y de su intervención en el proceso de cicatrización (6-11). Por tal motivo, se hizo esta revisión bibliográfica con la finalidad de determinar sus beneficios en adultos con pérdidas extensas de piel debido a quemaduras que comprometen más del 50% de la superficie corporal, en comparación con los beneficios del injerto autólogo de piel, aplicados una vez se encuentre estable el paciente.

## TRATAMIENTO CON INJERTO DE PIEL

El injerto de piel es un procedimiento que consiste en tomar una sección de piel que contenga epidermis y dermis de una zona sana del cuerpo, o zona donante. Se obtiene por medio de un instrumento llamado dermatomo, con el que se obtienen cortes finos de diferentes medidas (3). La zona lesionada se cubre con la piel obtenida; mientras más gruesa, mejor cicatrizará la herida, aunque más comprometida quedará la zona donante (2). A pesar de esto, siempre queda dermis reticular suficiente para que la zona donante se auto regenere (3).

Al tomar el injerto de la zona donante, el injerto pierde su irrigación; al colocarlo en la zona lesionada y ya debidamente desbridada, el injerto sobrevive los primeros 3 a 5 días por la difusión de nutrientes proveniente de la zona lesionada. Durante este periodo, inicia un proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos entre la zona afectada y el injerto, convirtiéndose en su principal mecanismo de nutrición; una vez formados los nuevos vasos por angiogénesis el injerto ha sido efectivo (3).

El injerto es usado cuando el cierre primario, o generación de nuevo epitelio, es imposible por la pérdida de tejido y el cierre por segunda intención está contraindicado por el riesgo de infección. En caso de quemaduras extensas, donde el compromiso es mayor, la intervención médica, con injertos de piel u otra técnica, serán necesarios. Si cursa con quemaduras de segundo grado profundo o tercer grado, deben practicarse colgajos, dado que disminuye el porcentaje de adherencia del injerto de piel. Algunas complicaciones

que se presentan, teniendo en cuenta los factores de riesgo para el pronóstico de la quemadura, son infecciones, hematomas y quistes de inclusión (2).

## OBTENCIÓN *IN VITRO* DE LÁMINAS DE QUERATINOCITOS: ACCIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE UNIPOTENCIALES

Por definición, las células madre se caracterizan por la habilidad de autorrenovación y de diferenciación a múltiples líneas celulares (2,19). Las células madre son necesarias siempre que se presenta la exigencia recurrente de reemplazar células diferenciadas o tejidos adultos.

Estas células se pueden clasificar de dos maneras: según el tejido de origen, en células madre, embrionarias o adultas; y según su potencial de diferenciación, en células totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales y unipotenciales.

Las células totipotentes son aquellas capaces de dar origen a un organismo completo y a un tejido extraembrionario; las pluripotentes producen células derivadas de cualquiera de las tres capas embrionarias, mesodermo, endodermo y ectodermo; las multipotentes generan todos los tipos celulares derivados de una sola capa embrionaria, entre ellos se encuentran las neuronales, las hematopoyéticas y las mesenquimales. Por último, las células madre con un menor potencial para diferenciarse son conocidas como unipotenciales; un ejemplo de éstas son las epidérmicas que se encuentran en la capa basal de la piel y que únicamente producen escamas queratinizadas (20).

Las células madre han sido estudiadas desde un comienzo por Till y McCulloch a finales de los años 50 (2,21). Rheinwald y Green, en la década de los 70, aplicaron la técnica de cultivo celular a la producción de equivalentes cutáneos para la cobertura de lesiones en piel, pudiendo cultivar extensas hojas de células madre mesenquimales extraídas de la dermis, capaces de diferenciarse en queratinocitos como equivalentes cutáneos (8).

Para la década de los 90, los estudios se enfocaron en las células madres mesenquimales (*Mesenchymal Stem Cells*, MSC), descritas y cultivadas *in vitro* en 1976 por Friedenstein, *et al.* (6); tienen la capacidad de sintetizar en mayor cantidad colágeno, y factores de crecimiento y de angiogénesis comparada con los fibroblastos nativos, además de las capacidades usuales de las células madre. Estas células madre adultas mesenquimales pueden aislarse de la médula ósea y de otros tejidos del paciente

como el tejido adiposo, la sangre del cordón umbilical, la pulpa dental y la dermis (2, 6, 8, 13).

La terapia celular con células madre consiste en extraer células madre autólogas tanto hematopoyéticas como mesenquimales (del mismo paciente) o alogénicas (de la misma especie, es decir, células humanas diferentes a las del paciente) de zonas ricas en ellas, ya nombradas con anterioridad, y cultivarlas *in vitro* para luego ser extraídas y utilizadas como equivalentes cutáneos (4, 6, 8 -11).

En primera instancia, el medio de cultivo se basa en el medio de cultivo descrito por primera vez por Rheinwald y Green en la década de los 70, actualmente, modificado por MacNeil y su equipo de trabajo en la última década, con la finalidad de conducir la diferenciación de las células madre a queratinocitos o células epidérmicas. Consiste en un medio (medio basal con suplemento de extracto de pituitaria bovina, factor de crecimiento epidérmico humano, insulina bovina, hidrocortisona, gentamicina, anfotericina B, epinefrina y transferrina) recubierto de colágeno (1:100; colágeno tipo 1 de cola de rata) (4).

Las células madre mesenquimales extraídas de la dermis se cultivan en una incubadora a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>; el medio de cultivo se cambia cada dos días, hasta que haya, aproximadamente, 80% de confluencia. Se extraen del medio y se centrifugan por 5 minutos, se cuentan con un hemocitómetro, hasta obtener una concentración de 100.000 células por frasco. Una vez allí, se siembran en un medio con suplemento de adenina, penicilina (100 UI/ml), estreptomycin (100mg/ml), suero fetal bovino al 10%, hidrocortisona (0,5ng/ml), factor de crecimiento epidérmico (10ng/ml) e insulina (5mg/ml) y se dejan cultivando, aproximadamente, 14 a 20 días (4).

Una vez centrifugadas y sembradas en el medio de cultivo con suero bovino fetal al 10%, se adiciona cloruro de calcio en altas concentraciones (1,4 mM), evidenciando la importancia de este en la estratificación de los queratinocitos y en el grosor de la epidermis que se formará de este cultivo de queratinocitos a partir de las células madre mesenquimales, se toma una pequeña muestra del nuevo tejido formado *in vitro*, se colorea con hematoxilina y eosina y se observa al microscopio, evaluando el estado mitótico de las células, la estratificación y el grosor de la muestra de epitelio (4).

Las láminas de estas células madre son un equivalente cutáneo autólogo y de dos capas. La capa interna, equivalente a la dermis, está compuesta por plasma y

plaquetas autólogas en gel en presencia de cloruro de calcio, compuesto al que se le adicionan fibroblastos del propio paciente; sobre esta capa, simulando la epidermis, se siembran queratinocitos autólogos en distinto grado de maduración como se indicó con anterioridad obtenidos de la muestra de células madre, y se obtiene el cultivo entre 14 y 20 días luego de recibida la biopsia de piel de 8x1 cm, cantidad suficiente para extraer láminas de queratinocitos de 100.000 células por mililitro, aproximadamente, en cada frasco de cultivo (6). Se trasplantan con la misma técnica del injerto de piel, con 65% a 90% de prendimiento (6, 7).

Las complicaciones que se han documentado se dividen en tempranas, ampollas (31%) y prurito (4,7%), y tardías, pérdida del injerto (2,3%), contracturas de la herida (66%) (22) e infecciones locales (44,5%) (22).

## MÉTODOS

Para esta revisión bibliográfica, se hizo una búsqueda exhaustiva de estudios analíticos observacionales, experimentales y descriptivos sobre la terapia con células madre para la regeneración de piel en pacientes quemados con un compromiso mayor del 50% de la superficie corporal. Los criterios de inclusión observados fueron: pacientes adultos entre 21 y 59 años, sin ninguna enfermedad previa, con más del 50% superficie corporal quemada, estudios de los últimos diez años realizados en países como Estados Unidos, China, Colombia y Chile, en los idiomas inglés, español y portugués, a través de bases de datos, tales como Pubmed, SciELO, SpringerLink, Ovid, con ingreso a través de bibliotecas virtuales de la Universidad El Bosque y la Pontificia Universidad Javeriana. Durante la búsqueda se descartaron los artículos que no cumplían los criterios propuestos, y otros fueron utilizados como base para la realización del marco conceptual.

Para definir los beneficios de cada procedimiento y obtener los resultados comparativos, se tuvo en cuenta el tiempo requerido por el paciente desde el inicio de cada procedimiento hasta la obtención de la regeneración de piel, el porcentaje de cumplimiento del tratamiento, el número de complicaciones y su gravedad, la disminución de la morbilidad, los costos, el número de intervenciones quirúrgicas y el resultado final de la calidad de la piel regenerada, en cuanto a elasticidad, grosor y estética.

## DISCUSIÓN

Se obtuvieron 26 artículos sobre células madre, utilizados como base fundamental para el desarrollo de

suplentes cutáneos. Se Destacaron cinco artículos específicos sobre la terapia celular con células madre para el manejo de grandes quemaduras, donde se expone la obtención de las mismas a través de una biopsia, y el cultivo de estas que, según los estudios de González (6), Cirode (22) y Yim (23), toman alrededor de 2 a 3 semanas para diferenciarse en queratinocitos. Una vez implantados en la zona afectada muestran una tasa media del 65 a 90% de adherencia con evidencia de regeneración de epitelio en un promedio de 7 días, a diferencia del injerto de piel autólogo que presenta una tasa de prendimiento de 85 a 90%, e inicio de regeneración a los 10 días de implantado según González, *et al.* (6). Cabe resaltar que es necesaria la utilización de sustitutos de piel en las 2 a 3 semanas anteriores a la colocación del autoinjerto.

Una vez la implantación haya sido efectiva, ya sea del cultivo de células madre o del injerto de piel, se entra a valorar el número necesario de intervenciones quirúrgicas, que para el cultivo de células madre según Cirodde (22) y Sood (24) pueden ser entre 2 a 9 intervenciones. Por el contrario, el injerto de piel puede ser múltiple, incluso años con intervenciones dependiendo de la amplitud de la zona donante y su capacidad de regeneración (3); esto se ve reflejado en el tiempo de estancia hospitalaria, en promedio 100 días de estancia en tratamiento con terapia celular. Wood, *et al.* (25), exponen que hay una menor estancia con terapia celular que con el injerto de piel.

Por último, Sood, *et al.* (24), observaron una supervivencia del 72,7 al 91% con una mortalidad relativamente baja. Cirodde, *et al.* (22), reportaron el 16% de mortalidad, mientras que Yim, *et al.* (23), tan solo el 3,4%. Esta mortalidad la reportan los cinco autores, principalmente asociadas a infecciones con un promedio de 44,5%, donde se aislaron *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. La mortalidad en los pacientes tratados con injerto de piel está relacionada con infecciones y fallo del injerto.

Con respecto a las posibles complicaciones, solo los estudios realizados por Cirodde (22) y por Sood (24) proponen las infecciones como primera causa (2).

En cuanto a características de piel regenerada, se evidenció en el estudio de González, *et al.* (6), que la elasticidad de la piel regenerada por cultivo celular era mayor a la ofrecida por el injerto de piel, ya que el cultivo de dos capas presenta células dérmicas que ofrecen elasticidad; por tal razón, se explica su utilización en quemaduras de segundo grado profundo y tercer grado (6), diferente al injerto de piel que se

utiliza con frecuencia en quemaduras de segundo grado superficial; en grados más profundos se usan colgajos de piel (4,6).

Los autores concuerdan con que la terapia celular es una excelente opción terapéutica para la regeneración de la piel en pacientes quemados con compromiso mayor del 50% de superficie corporal; sin embargo, Cirodde (22) considera que solo deberían ser candidatos para este tratamiento aquellos pacientes que presenten compromiso mayor del 70%.

Por las características descritas con anterioridad de ambos procedimientos para la regeneración de piel, se evidencia que en algunos aspectos el injerto de piel se asemeja a los resultados por el cultivo de células madre, como el porcentaje de cumplimiento; sin embargo, no se debe olvidar que el injerto de piel requiere de una zona donante que queda con secuelas estéticas que pueden afectar al paciente, algo que se evita con el otro procedimiento. Sood, *et al.* (24), proponen que estos casos deben ser manejados por un equipo interdisciplinario que incluya profesionales de salud mental.

Finalmente, la supervivencia de un paciente con quemaduras extensas, se limita principalmente al manejo inicial que se le da en las primeras 48 horas; el segundo plano se enfoca en el tratamiento posterior que ofrece la regeneración de la piel definitiva, ya sea, el injerto de piel o la terapia celular con células madre, teniendo como objetivo obtener una buena funcionalidad y un resultado estético decente para el paciente, que comparados ya con anterioridad, demuestra una leve ventaja de las células madre en el ámbito de funcionalidad y de salud mental del paciente, con una pequeña desventaja sobre el injerto de piel en el aspecto monetario, ya que los diferentes estudios demuestran que la terapia celular es un procedimiento caro y laborioso comparado con el injerto de piel.

Actualmente, no existe ningún sustituto de piel capaz de reemplazar todas las funciones de la piel intacta; sin embargo, el interés y el desarrollo de nuevos métodos terapéuticos incitan al área de investigación a continuar en la búsqueda de la mejor alternativa.

## REFERENCIAS

1. Morales, C. Gómez, A. Oviedo, J. Gallego, C. Usuga, Y. Hoyos, M. Arenas, C. Infección en pacientes quemados del hospital universitario San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia. *Rev Colomb Cir.* 2010; 25:267-75.
2. Chen, M. Przybrowski, M. Berthiaume, F. Stem Cells for skin engineering and wound healing. *Rev Biomed Eng.* 2009; 37(4-5): 399-421.
3. Beldon, P. What you need to know about skin grafts and donor site wounds. Technical guide. *Wound Essentials.* 2007; 2: 149-55.
4. Lamb, R. Ambler, C. Keratinocytes propagated in serum-free, feeder-free cultured conditions fail to form stratified epidermis in a reconstituted skin model. [Internet] publicado en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0052494>, Enero 2012, 8(1). Acceso: 10 julio de 2013.
5. Prósper, F. Gavira, J. Herreros, J. Rábago, G. Luquin, R. Moreno, J. Robles, J. Redondo, P. Trasplante celular y terapia regenerativa con células madre. *An Sist Sanit Nav.* 2006; 29 (2): 219-34.
6. González, I. Aguilar, P. Torrero, J. Ferreiro, I. Gabilondo, F. Cobertura de grandes quemados con cultivo de queratinocitos: casuística de nuestra unidad y protocolo de tratamiento. *Rev Latinoam Cir Plást.* Julio-agosto-septiembre. 2012; 38(3); 257-264.
7. Alfonso, L. Fuchs, E. Stem cells of the skin epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Septiembre 30. 2003; 100(1): 11830-35.
8. Huang, G. Gronthos, S. Shi, S. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs. Those from Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine. *J Dent Res.* 2009; 88(9): 792-806.
9. Collawn, S. Banerjee, S. De la Torre, J. Vasconez, L. Chow, L. Adipose-derived stromal cells accelerate wound healing in an organotypic raft culture model. *Ann Plast Surg.* 2012 mayo; 68(5): 501-504.
10. Mishra, P. Mishra, P.J. Banerjee, D. Cell-free derivatives from mesenchymal stem cells are effective in wound therapy. *World J Stem Cells.* 2012 mayo 26; 4(5): 35-43.
11. Gir, P. Oni, G. Brown, S. Mojallal, A. Rohrich, Rod. Human Adipose Stem Cells: Current clinical Applications. *Plastic Reconstruction Surgery Journal.* 2012; 129: 1277.
12. Garrido, A. Pinos, P. Medrano, S. Bruscas, M. Moreno, M. Gil, I. Aguilar, J. Guías de Manejo de quemaduras extensas en paciente adulto. Hospital clínico universitario. Zaragoza-España.

13. Organización mundial de la salud (OMS). Salud de la mujer. Noviembre 2009 [internet] Publicado en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs334/es/> Consultado: 18 de junio de 2013
14. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Estimaciones de la tasa de mortalidad nacional, departamental y municipal, 2005–2008 [Internet]; 2011. Disponible en: [http://www.dane.gov.co/daneweb\\_V09/](http://www.dane.gov.co/daneweb_V09/) Consultado: 18 de junio de 2013.
15. Herndon, D. Spies, M. Modern burn care. *Semin Pediatr Surg.* 2001 Febrero; 100 (1): 28-31.
16. MINISTERIO DE SALUD DE COLOMBIA. Guía clínica del gran quemado. Minsal. 2007
17. García, E. Torres, M. Torres, J. Muñoz, J. Clemente, M. Gonzalez, J. manejo urgente de las quemaduras en atención primaria. *Semergen.* 25(2): 132-40.
18. Peñalba, A. Marañón, R. Tratamiento de las quemaduras en urgencias. Protocolos diagnósticos y terapéuticos de urgencias pediátricas. Asociación española de pediatría. Madrid, España. 2008.
19. Gimble J, Katz A, Bunnell B. Adipose-derived Stem Cells for Regenerative medicine. *Circ Res.* 2007; 100: 1249-60.
20. Mera C, Roa A, Ramírez, S. Células madre hematopoyéticas, generalidades y vías implicadas en sus mecanismos de auto-renovación. *Rev Cienc Salud.* 2007;5:67-89.
21. Giraldo, J. Madero, J. Ávila, M. Cuneo, S. López, C. Escobar, M. Aparicio, A. Ruiz, J. Stem cells. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2003: 54(2); 87-96.
22. Cirodde, A. Leclerc, T. Jault, P. Duhamel, P. Lataillade, J. Bargues, L. Cultured epithelial autografts in massive burns: a single-center retrospective study with 63 patients. *Burns* 2011; 37: 964-72
23. Yim, H. Tae Yang, H. Cho, Y. Seo, C. Lee, B. Ko, J. Kwak, I. Kim, D. Hur, J. Kim, J.H. Chun, W. Clinical study of cultured epithelial autografts in liquid suspension in severe burn patients. *Burns.* 2011; 37: 1067-71.
24. Sood, R. Roggy, D. Zieger, M. Balledux, J. Chaudhari, S. Koumanis, D. Mir, H. Cohen, A. Knipe, C. Cultured epithelial autografts for coverage of large burn wounds in eighty-eight patients: the Indiana university experience. *J Burn Care Res.* 2010; 31: 559-68.
25. Wood. F.M. Kolybaba, M.L. Allen, P. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn wounds: Eleven years of clinical experience. *Burns.* 2006; 32(5):538-44.
26. Centro Cochrane Iberoamericano, traductores. Manual Cochrane de Revisiones Sistemáticas de Intervenciones, versión 5.1.0 [actualizada en marzo de 2011] [Internet]. Barcelona: Centro Cochrane Iberoamericano; 2012. Disponible en <http://www.cochrane.es/?q=es/node/269> Consultado: 13 de Enero de 2014
27. Alberts, B, Lewis, J, Raff, M, Bray, D, Roberts, K, Watson, J. Capítulo 22: Células diferenciadas y conservación de los tejidos. En: *Biología molecular de la célula.* 3ra ed. Ediciones omega. 2002. 1219-1278.
28. Alberts, B, Lewis, J, Raff, M, Bray, D, Roberts, K, Watson, J. Capítulo 21: Mecanismos celulares del desarrollo. En: *Biología molecular de la célula.* 3ra ed. Ediciones omega. 2002. 1111-1218.
29. Curiel, E. Prieto, M. Fernández, S. Fernández, J. Mora, J. Delgado, M. Epidemiología, manejo inicial y análisis de morbilidad del gran quemado. *Med Intensiva.* 2006; 30(8):363-69.
30. Butler, K. Goverman, J. Harry, M. Ma, H. Fischman, A. Yu, Y. Bilodeau, M. Rad, A. Bonab, A. Tompkins, R. Fagan, S. Stem Cells and Burns: Review and Therapeutic Implications. *J Burn Care Res.* 2010; 31(6):874–81.
31. Singer, A. Lark, R. Cutaneous wound healing. Review article. *N Engl J Med.* September 2. 1999; 341: 738-46.
32. Castagnoli C, Alotto D, Cambieri I, Casimiri R, Aluffi M, Stella M et al. Evaluation of donor skin viability: fresh and cryopreserved skin using tetrazolium salt assay. *Burns* 2003; 29(8): 759-67
33. García, P. Hervé, B. Juliet, C. Turner, E. Arretz, C. Arriagada, J. Rafols, C. Minguell, J. Ocqueteau, M. Pizarro, I. Andriguetti, F. Rodriguez, A. Recomendaciones para el estudio microbiológico de tejidos preservados para implantes. *Rev Chil Infect.* 2004; 21 (2): 102-16.
34. China stem Cells News [internet] publicado en: <http://stemcellschina.com/> Acceso: 25 Junio de 2013
35. Durango L, Vargas F. Manejo medico inicial del paciente quemado. *Iatreia.* 2004;17:54-61.
36. Sobral, C, Gragnani A, Morgan J, Ferreira L. Inhibition of proliferation of pseudomonas aeru-

- ginosa by KGF in a experimental burn model using human cultured keratinocytes. *Burns*. 2007;33:613-20.
37. Lootens L, Brusselaers N, Beele H, Monstrey S. Keratinocytes in the treatment of severe burn injury: An update. *Int Wound J*. 2013;10:6-12.
  38. Bargues L, Prat M, Leclerc T, Bey E. Present and future of cell therapy in burns. *Pathol Biol*. 2011;59:49-56.
  39. Fredriksson, C. Kratz, G. Huss, F. Transplantation of cultured human keratinocytes in single cell suspension: A comparative in vitro study of different application techniques. *Burns*. 2008;34:212-9.
  40. Natesan S, Wrice N, Baer D, Christy R. Debrided skin as a source of autologous stem cells for wound repair. *Stem Cells*. 2011;29:1219-30.
  41. Teoh, H. Cheong, S. Induced pluripotent stem cells in research and therapy. *Malays J Pathol*. 2012;34:1-13
  42. Somorjai I, Lohmann J, Holstein T, Zhao Z. Stem cells: A view from the roots. *Biotechnol J*. 2012;7:704-22.
  43. Prósper F, Verfaillie C. Células madre adultas. *An Sist Sanit Nav*. 2003;26:345-56.
  44. Sun, T. Tao, R. Han, Y. Xu, G. Liu, J. Han, Y. Therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells with Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway pre-activated for the treatment of diabetic wounds. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014; 18:2460-4.
  45. Jeschke, M. Finnerty, C. Shahrokhi, S. Branski, L. Dibildox, M. Wound coverage technologies in burn care: Novel techniques. *J Burn Care Res*. 2013 Nov-Dec; 34(6):612-20.
  46. Thomson, J. Itskovitz-Eldor, J. Shapiro, S. Waknitz, M. Swiergiel, J. Marshall, V. Jones, J. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145-7.
  47. Wesley M, Leon, J. Rocky, S. Concise review: Clinical translation of wound healing therapies based on mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1:44-50.
  48. Kozlik M, Wójcicki P. The use of stem cells in plastic and reconstructive surgery. *Adv Clin Exp Med*. 2014;23:1011-7.
  49. Meruane, M. Rojas, M. Marcelain, K. The Use of Adipose Tissue-Derived Stem Cells within a Dermal Substitute Improves Skin Regeneration by Increasing Neovascularization and Collagen Synthesis. *Plast Reconstr Surg*. 2012 Jul;130(1):53-63.
  50. Ansboro, S. Greiser, U. Barry, F. Murphy, M. Strategies For Improved Targeting Of Therapeutic Cells: Implications For Tissue Repair. *Eur Cell Mater*. 2012 Apr 21;23:310-8