

Estudio Preliminar de Terapia Fotodinámica Aplicada en la Regeneración de Tejidos.

De la O L¹, Rosas C¹, Coyotl M¹, Juárez G², García E³, Padilla J⁵, Ramos F⁴, Spezzia T⁶, Handal A⁵, Moran J⁶, Sánchez O⁵ y García W⁵

1 Facultad de Ciencias Biológicas, 2 Facultad de Medicina, 3 Facultad de Ciencias Físico Matemáticas, 4 Bioterio Claude Bernard, 5 Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 6 Departamento de Óptica, Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica.

Resumen

*wendy.garcias@correo.buap.mx **juan.padilla@correo.buap.mx

Antecedentes: La terapia fotodinámica (TFD) se ha propuesto como una nueva alternativa terapéutica para acelerar el proceso de cicatrización de heridas, investigaciones recientes muestran la eficacia de la TFD en la regeneración del tejido dañado, sin embargo, hay poca información sobre los cambios estructurales y moleculares implicados en la remodelación estructural después de los tratamientos. **Objetivos:** Analizar los cambios estructurales en la dermis y la epidermis inducidos por la TFD en heridas cutáneas en un modelo murino. **Métodos:** Se incluyeron 24 ratas macho (*Rattus norvegicus*) alopecías, que fueron asignadas aleatoriamente a tres grupos de ocho ratas cada uno, previa anestesia, se les realizaron dos heridas circulares en el dorso de 1 cm de diámetro a las cuales se les aplicaron diferentes tratamientos: Grupo 1 Control (sin tratamiento), Grupo 2 TFD (luz roja 645 nm y azul de metileno), Grupo 3 (luz verde 530 nm y rosa de bengala), los tratamientos se aplicaron los días 0, 1 y 2 posteriores a la herida. Se capturaron imágenes convencionales para monitorear el proceso de cicatrización de las heridas en los tres grupos; adicionalmente se realizaron biopsias de las heridas a los días 0, 3, 7 y 14 posteriores a la lesión para ser analizadas histológicamente. **Resultados:** los resultados preliminares muestran una reducción en los tiempos de cicatrización en los grupos tratados, estamos realizando los análisis histológicos que nos permitirán una mejor comprensión de los efectos de la TFD en proceso de cicatrización.

Introducción

Como barrera externa, la piel es el órgano más desafiado por una variedad de factores de estrés externos, lo que ocasiona daños celulares y de barrera frecuente. La piel esta formada por tres capas, la epidermis, la dermis y la hipodermis, que trabajan juntas en una red, comunicándose a través de biomoléculas y varios otros componentes, con el fin de preservar su homeostasis y función. La pérdida de la homeostasis de la piel, a través de una lesión, induce el proceso de curación de la herida. Recientemente se ha propuesto el uso de Luz para el tratamiento de heridas, lo que se conoce como TFD, la cual busca optimizar la energía del espectro visible sobre los organelos celulares y generar una respuesta eficiente. Los puntos decisivos para una TFD exitosa son: una apropiada oxigenación, buena distribución del fotosensibilizador y suficiente penetración de la luz.

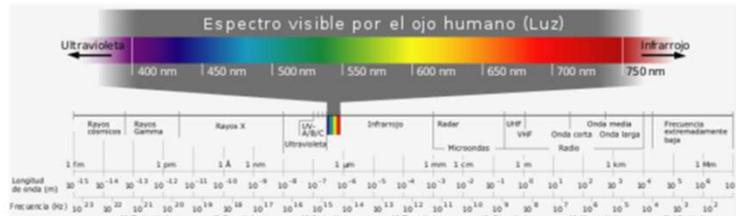


Figura 1. El espectro de luz visible para los seres humanos se encuentra entre 400nm y 700nm.

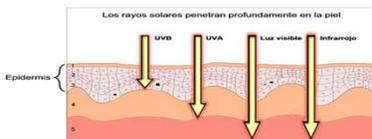
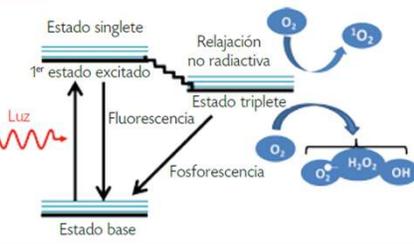


Figura 2. Nivel de penetración de las distintas longitudes de onda de la luz. 1 Capa córnea, 2 Capa spino-celular, 3 Capa basal y melanocitos, 4 Dermis y 5 Tejido subcutáneo.

Figura 3. Fotoactivación de colorantes en la PDT. La iluminación excita al colorante. Mediante transferencia de energía al estado triplete de la molécula, esta puede reaccionar con oxígeno o moléculas que contienen oxígeno para generar especies altamente reactivas (1O_2 , O_2^- , OH y H_2O_2) que destruyen células dañadas.



Objetivo

Analizar los cambios estructurales en la dermis y la epidermis, inducidos por la TFD en heridas cutáneas en un modelo murino.

Metodología

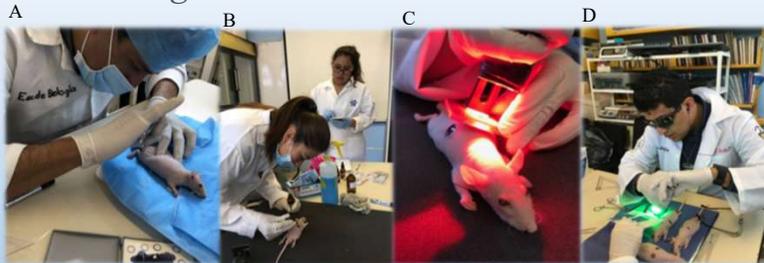


Figura 4. Protocolo experimental de terapia fotodinámica. A) Heridas realizadas quirúrgicamente en el dorso de ratas alopecías, B) Aplicación de fotosensibilizadores (Azul de Metileno 10 y 20 mM y Rosa de Bengala 2 y 5mM), C) Aplicación de luz roja (900nm) durante 20 seg. y 1 min 40 seg), D) Luz Verde (500nm) durante 37 seg y 2 min y 26 seg).

Resultados

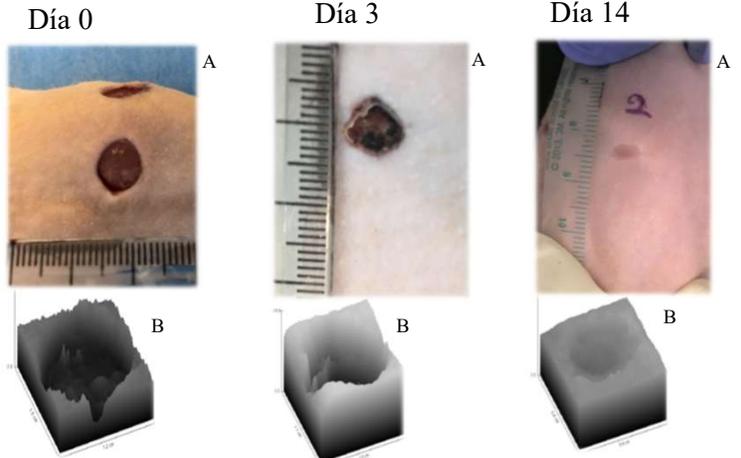


Figura 5. Cicatrización del grupo control a los días 0, 3 y 14. A) Imágenes convencionales, nótese la oclusión parcial al día 14. B) Reconstrucción tridimensional de la herida con el software Image J a los días 0, 3 y 14.

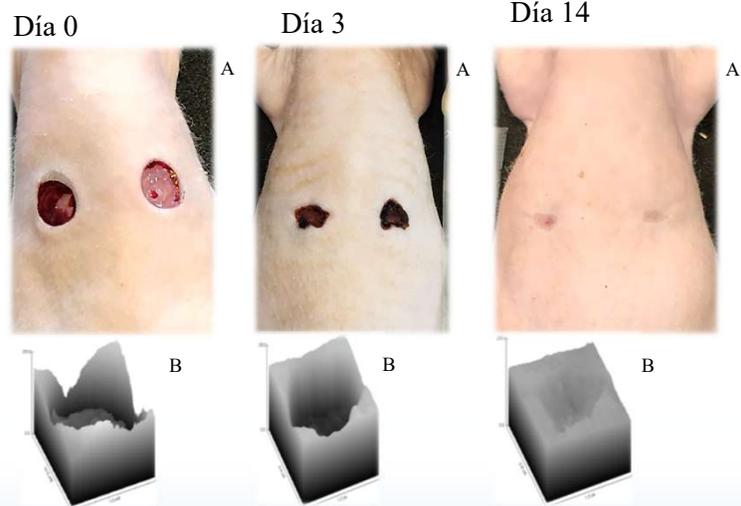


Figura 6. Cicatrización del grupo tratado con TFD a los días 0, 3 y 14. A) Imágenes convencionales, nótese la oclusión al día 14. B) Reconstrucción tridimensional de la herida con el software Image J a los días 0, 3 y 14.

La cicatrización total de la herida en el grupo control ocurrió a los 21 días. Mientras que en el grupo tratado con rosa de bengala y luz verde la cicatrización ocurrió a los 14 días, estamos realizando los análisis histológicos que nos permitirán una mejor comprensión de los efectos de la TFD en proceso de cicatrización.

Conclusiones

Nuestros resultados preliminares muestran una reducción en los tiempos de cicatrización en los grupos tratados, esto refuerza la idea de que la TFD induce la activación metabólica de los organelos de la célula y genera una re-epitelización mas eficiente.

Referencias

- Ramos, R., Spezzia, T., Ramirez, J., La Biofotónica y tu salud. *Revista Ciencia*, 67(2016)46- 53.
- NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. <http://www.senasica.gob.mx/?doc=743>.
- Dahlborn, K., et al., 2013. Report of the Federation of European Laboratory Animal Associations Working Group on Animal Identification, *Laboratory Animals*, 47: 2-11. <http://lan.sagepub.com/content/47/1/2.full.pdf+html>.
- Ramirez Hernández, G. A. (2010). Fisiología de la cicatrización cutánea. *Revista Facultad de Salud*, 2(2), 69-78.