



TEMAS DE FARMACOLOGÍA Y TERAPÉUTICA VETERINARIAS

JUAN ÁNGEL HOLENWEGER DENDI

Doctor en medicina veterinaria
Posgrado en Biomatemáticas y Bioestadística
Profesor adjunto de farmacología
Facultad de Veterinaria

JOSÉ ALEJO BENENATI SUNDBERG

Doctor en medicina veterinaria
Profesor agregado en farmacología
Facultad de Veterinaria

HUGO LEONEL PARADA CORREA

Doctor en medicina veterinaria
Profesor adjunto de farmacología
Facultad de Veterinaria

ÓSCAR NÉSTOR VENTURA PÉREZ

Químico
Profesor adjunto de Química Cuántica
Facultad de Química



IMPLANTE DE COLÁGENO

En 1967, Theile, describió un método de separación del colágeno a partir de piel animal. Desde esa fecha, numerosas investigaciones experimentales y clínicas demostraron los beneficios del empleo del colágeno en láminas, como estimulante de la cicatrización y relleno de heridas profundas, en las que hubo pérdida de sustancia.

Todos los tejidos conjuntivos normales del organismo tienen cuatro componentes morfológicos: células, vasos, fibras y la sustancia llamada fundamental. Esta última, que es de una complejidad inmensa, es la que embebe los otros tres componentes.

Células, vasos, fibras y sustancia fundamental están en proporciones según el tipo de tejido conjuntivo. Las fibras predominan en los tendones y las aponeurosis, las células en el tejido adiposo y la sustancia fundamental en el areolar.

En el tejido conjuntivo, aparte de las nerviosas, se encuentran tres tipos de fibras: colágeno, reticulina y elásticas.

COLÁGENO

Las fibras de colágeno se presentan en haces sinuosos. Estos tienen alrededor de $2\ \mu$ de grosor y cada fibrilla que lo integra, $0,1\ \mu$ de espesor y pueden separarse entre sí por desmenuzamiento.

El colágeno en los distintos tipos de animales presentan escasas diferencias pero, en virtud de las exigencias tecnológicas de la industria del cuero, los mejores estudiados son los provenientes de los cueros vacunos.

El colágeno es una proteína fibrosa, compleja, con una difracción característica a los rayos X.

Es insoluble en agua fría, pero fácilmente soluble en agua caliente, formando gelatina. Esta formación de gelatina es irreversible siendo/ por tanto/ imposible volver a obtener a partir de ella una masa fibrosa.

El colágeno nativo, tal cual está en el tejido conjuntivo, solo es atacado por la pepsina. En cambio,



bajo la forma de gelatina es atacado fácilmente por la mayor parte de las enzimas proteolíticas, tripsina, papaína, quimiotripsina, alfa, etcétera.

A pesar de que el colágeno se considera una proteína insoluble, de ella se separaron cuatro fracciones:

- A) Fracción soluble en álcalis (disuelve en amortiguador de fosfatos a pH 9).
- B) Fracción soluble en ácidos (con amortiguador pH 3).
- C) Colágeno insoluble que se obtiene con gelatina por tratamiento en autoclave después de extraer la A y B).
- D) Resto que queda como residuo en el autoclave.

La fracción insoluble es muy estable, y la soluble en álcalis se supone que es la precursora de las otras fracciones de colágeno.

El calor y la áurea aumentan mucho la susceptibilidad a la proteólisis frente a la tripsina y papaína.

En la descomposición proteolítica del colágeno se pudieron identificar 421 aminoácidos distintos; tal es su complejidad.

Es la única proteína animal, aparte de la elastina, que confiere hidroxiprolina en concentración tan elevada: forma el 14% del colágeno. Los otros principales componentes son: prolina, 15%; glicocola, 26%; ácido glutámico, 11%; y 1,3% de hidroxilina (que solo existe en el colágeno).

En la piel de los bovinos jóvenes existe una sustancia precursora del colágeno que se llama procolágeno, y es en la propia piel donde se efectúa un verdadero proceso de maduración del colágeno.

Esta maduración se realiza por la acción de una sustancia rica en tirosina y pobre en hidroxiprolina, probablemente un mucopolisacárido ó mucoproteína.

La obtención del colágeno de las fibras tendinosas se facilita por la acción de la ialuronidasa, así como precipitándola con sal.

El colágeno que se solubiliza en ácido acético diluido, contiene la estructura fibrosa



submicroscópica (o sea que solo se ve con microscopio electrónico) y, por tanto, se puede desecar y precipitar en forma fibrosa. En cambio, el tratado con agua caliente y transformado en gelatina, permanecerá sin recuperar la estructura fibrilar.

Las fibras de reticulina se distinguen solo microscópicamente del colágeno por tener fibrillas mas tenues, su forma ramificada y su tenencia a formar redes.

También se disuelven por ebullición. Para diferenciar el colágeno de la reticulina hay que pelar a los caracteres tintoriales: con sales de plata/ la reticulina se tiñe de negro y el colágeno toma un color rosa pardo.

Vale decir, que en la obtención comercial, la reticulina va junto con el colágeno y contribuye por su estructura tendiente a una red, a dar sostén al colágeno.

La fibra de colágeno puede desintegrarse por la acción de una proteasa; la colagenasa.

Existen dos colagenasas. una animal que se encuentra en los leucocitos en forma de roenzina, y otra microbiana.

La lisis que ellas producen sobre el colágeno es diferente. La colagenasa microbiana tritura las fibras de colágeno, en tanto que la colagenasa animal desenvuelve las tres cadenas polipeptídicas enroscadas entre sí, que forman un cordón que constituye la tripe hélice llamada tropocolágeno, componente de la microfibrilla colágena.

ELASTINA

La elastina tiene fibras rectas y a veces ramificadas. Solo se distinguen de las anteriores por las propiedades tintoriales. Es mucho más resistente al agua hirviente. Es la única que/ aparte del colágeno, posee hidroxiprolina.

Contiene enorme cantidad de aminoácidos, además de hidroxiprolina, glicocola, leucina, triptófano, prolina/ histidina, etcétera. Se disuelve por una enzima: la elactasa, muy próxima a la colagenasa.



SUSTANCIA FUNDAMENTAL

La sustancia fundamental está formada por un gel, y es esta sustancia la que debe eliminarse por tratamientos físicos y químicos para obtener, en la industria, las fibrillas de colágeno, con algunas pequeñas cantidades de reticulina y elastina, para usar en terapéutica. Para obtenerlas en el mayor grado de pureza y asepsia se recurre a la liofilización.

El material desecado, liofilizado, extendido en planchas livianas, fibrosas, asépticas, que por implantación se usan en la reparación de tejidos con pérdida de sustancia, sirve de andamiaje, sostén y conducción, para el crecimiento del tejido de cicatrización, de su vascularización y de su reparación.

Del colágeno obtenido industrialmente se controla su estabilidad, esterilidad y contenido en hidroxiprolina después de hidrolizado.

Para verificar la estabilidad del producto se hace:

- a) contralor de envejecimiento a temperatura ambiente y en medios de 40°C;
- b) control de aspecto, o sea que no presente cambios físicos;
- c) control cromatográfico después de la hidrólisis;
- d) valoración en aminoácidos;
- e) valoración de la hidroxiprolina.

La esterilidad del implante se prueba en cultivos en medios especiales.

IMPLANTE DE COLÁGENO

Del colágeno bovino purificado, solubilizado y desnaturalizado en medio ácido, después homogeneizado y neutralizada la solución, se obtiene por secado en el liofilizador la esponja de colágeno.

Las planchas de colágeno poseen una membrana superficial semipermeable que permite el pasaje de oxígeno. Los poros presentes son de un tamaño óptimo/ de tal modo que no permiten que el colágeno se seque y no ofrecen resistencia a la penetración del tejido de granulación.



Haya tres tipos de esponja: una de trama gruesa y abierta, otra de trama fina y abierta, y la tercera de trama fina y cerrada. Estos tres tipos se implantaron en cavidades animales. Al examinar a los animales, entre los 8 y 90 días, todos mostraron una invasión polimorfonuclear y linfoplasmocitaria, pero en mejores condiciones en el caso de la esponja de trama fina y cerrada.

Pasados más de 20 días, el colágeno estaba reabsorbido y movilizado por los macrófagos, y a su alrededor, y esto es lo más importante, se veían fibras colágenas propias del organismo, que lo infiltraban junto con neovasos.

Las fibras del implante se pueden diferenciar de las propias del organismo por tinción. El colágeno joven se tiñe de azul de Mallory, mientras que el colágeno viejo del implante toma color pardo. Transcurridos 15 a 20 días, el implante muestra recanalización conectiva e infiltración de colágeno joven de malla muy amplia; además se observan neovasos casi hasta el centro del implante en forma abundante.

INDICACIONES DEL USO DE IMPLANTES DE COLÁGENO EN MEDICINA VETERINARIA

Úlceras cutáneas: por decúbito, por radiaciones, por traumatismos, etcétera. Escaras en todas sus localizaciones: sacra, dorsal, iliar, trocantérica, glúteas, etcétera. STOOOP describe uraciones completas de escaras rebeldes en un lapso de 3 meses de tratamiento, disminución de la secreción, ausencia de reacciones inmunológicas de intolerancia y epitelización rápida.

-Quemaduras, en reemplazo del trasplante cutáneo. En el caso de quemaduras severas de tercer grado, WITTELS obtuvo el cierre de las heridas en 4 a 10 días usando colágeno en lugar de injertos.

-Defectos profundos de la piel: pérdida de sustancia, traumatismos graves (accidentes, mordeduras de perros, heridas en general), dehiscencia de heridas con cicatrización por segunda, defectos crónicos por fracaso de otros tratamientos previos.

-Heridas contusas y corticontusas atónicas.

-Heridas posoperatorias tórpidas, protección de zonas cruentas, superficies viscerales despolidas o desnutridas, muñones suturados (uterino, etc.), bordes de sutura intestinales y vasculares o de otros elementos anatómicos.



-Como agente hemostático en lesiones viscerales, SANGUINETTI, BARBERO Y MORALES, en caninos anestesiados, a través de una amplia laparotomía practicaron cavidades de 2 a 4 cms. de diámetro en lóbulos izquierdo y derecho del hígado, ambos riñones, bazo y pared interior del abdomen. Estas pérdidas de sustancia se rellenaron con esponjas de colágeno aplicadas a presión para obtener hemostasis compresiva y un relleno completo. Los animales se sacrificaron en distintas fechas entre los 8 y 90 días. En la necropsia se verificó el estado de las cavidades rellenadas y de las superficies protegidas con colágeno. A los 8 días, el material estaba englobado en las cavidades y mantenía su estructura cubierta con fibrina. A los 15 días aparecía bien fijo a las paredes de las cavidades. Entre los 30 y 50 días no existen mayores diferencias, el material mantiene su estructura y no se observan signos inflamatorios. Entre los 60 y 90 días, las cavidades se estrechan y el implante disminuye su volumen sin desaparecer ni alterar la trama.

En los órganos con implantes no se hallan supuraciones.

-Relleno de defectos óseos, cicatrización de secuelas de osteomielitis. BEDACHT refiere excelentes resultados en el tratamiento quirúrgico de la osteomielitis, donde el colágeno tiene acción hemostática al rellenar las cavidades óseas y, al mismo tiempo, puede embeberse con un antibiótico (gentamicina) para una buena acción antibacteriana local.

-Cubierta de fístulas.

-Relleno cosmético en operaciones plásticas.

- El esquema de la utilización del colágeno se basa en la perfecta preparación del paciente: heridas, lesiones limpias, libre de tejidos necrosados, absolutamente estériles, vigilancia adecuada, cambios de curación en fechas oportunas, protección antibiótica, tratamiento del estado general y de la irrigación tisular.

Referente a la limpieza quirúrgica de la lesión, se da por sobreentendido. Pero en lo atinente a la asepsia, a la esterilización, ella es la base del éxito. Recordemos que las lesiones tórpidas son las más adecuadas para el piociánico y que, además de la antibióticoterapia, debe tratarse la zona con solución de ácido acético o con solución de nitrato de plata al 0,5 %

SANGUINETTI, BARBERO Y MORALES demostraron que el estafilococo dorado y el piociánico fermentan y disuelven el colágeno (acción de colagenólisis). Como ellos dicen, con una preparación



adecuada de la lesión se le gana una carrera al tiempo.

Se aconseja proceder de la forma siguiente:

- 1) Tomar muestras de exudados y restos necróticos de la herida.
- 2) efectuar el cultivo y el antibiograma.
- 3) entre los antibióticos, el que da más resultados con éxito es la gentamicina.
- 4) Hacer lavados diarios de la herida por arrastre mecánico hasta obtener un aceptable lecho de granulación. Después hisopar la lesión con antibiótico concentrado.
- 5) Para aplicarlo sobre defectos de la piel, debe recortarse el implante con la forma exacta de la herida a rellenar. El implante de colágeno puede humedecerse en solución isotónica de cloruro de sodio o en un antibiótico apropiado (gentamicina).
- 6) Después de colocado, moldeado y almohadillado dentro de la herida debe cubrirse con gasas secas y un vendaje suavemente compresivo. Es importante evitar la movilidad del implante.

- En cavidades quirúrgicas de diversos parénquimas, el colágeno puede implantarse rellenando toda la pérdida de sustancia.

- Para cubrir superficies cruentas, debe fijarse el implante de colágeno con algunos puntos de sutura para evitar su desplazamiento.

Según los casos, puede ser necesario agregar nuevos implantes de colágeno al efectuar las curaciones.

La desintegración del material implantado a partir de una proteasa liberada por los leucocitos, es la responsable de la lenta lisis del colágeno implantado, hasta partículas que no tienen poder antigénico. Esta lisis implica que el material implantado mantenga un contacto íntimo con el lecho de la herida y se incorpore al proceso de granulación como colágeno exógeno, formando a su vez el esqueleto plástico sobre el que se desarrolla la invasión fibroblástica y el colágeno endógeno.

El uso del colágeno liofilizado según J.E. BRUNÍ encuentra en la cirugía indicaciones reales ya que en primera instancia estimula activa y aceleradamente el proceso de granulación y cicatrización, lo que facilita una rápida mejoría al paciente.



El colágeno en esponja se comporta como un excelente material de relleno en cavidades de diversos órganos y como protección de superficies cruentas. Su trama es invadida por un infiltrado polimorfonuclear con penetración de neovasos y formación de colágeno joven, que finalmente no muestra diferencias estructurales con el colágeno del implante, como ya se expresó antes.

La ausencia de procesos infecciosos, de reacciones inmunológicas o de cuerpo extraño, confirma la buena tolerancia del material, que al mismo tiempo aporta el colágeno requerido para el proceso de cicatrización.

La vascularización y relleno final del aposito termina por incorporarlo como un trasplante verdadero.

La esponja de trama fina y cerrada presenta ventajas con respecto a otras mas gruesas o abiertas, porque permite un relleno rápido y compacto.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

BEDACHT, R. (1970). Kollagenanwendung bei post-traumatischer, chronisch rezidivierender Osteomyelitis. Die post-traumatische Osteomyelitis, 163, Ed. F.K. Schattauer, Stuttgart-N.York.

HAM, A.W. (1967). Tratado de histología. Trad. del inglés por A. Folch y Pí. Ed. Interamericanas, 5a. edición, 959 pág. e ilustr.

LEHNINGER, A.L.(1972) Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular. Trad. del inglés por F. Calvet Prats y J. Bonzal Fes. Ed. Omega, S.A. 887 pág. e ilustr.

SANGUINETTI, F.A., BARBERO, L.F. Y MORALES, J.C. (1973) Empleo del colágeno heterólogo liofilizado en cirugía. El día médico, 27/9.

BARBERO, L.F. Y MORALES, J.C. (1974) Esponja de colágeno liofilizado como relleno de cavidades y protección de zonas cruentas.Rev. Argent. Cirug., 27/3.

STOOP, J.W.M.(1970) Treatment of pressure sores in paraplegic patients with animal collagen. Paraplegia, 8. 177.

WITELS, W. (1970) Erfahrungen in der Therapie Schwerstverbrannter. Fortschritte der Medizin, 19: 1279.

y col. (1969) Therapie Schiecht heilender Ulcera cruris mitauto-, homo un aüoplastischen Material. Haut. Geschi. Krkh., 44, 18:675