

## ARTÍCULOS ORIGINALES

# Efecto de la xantopterina en la cicatrización de heridas por quemaduras en ratas

## *Effect of xanthopterin in burn wound healing in rats*

Edward Alca<sup>1</sup>, Manuel del Solar<sup>2</sup>, Francisco Bravo<sup>2</sup>

### RESUMEN:

**Introducción:** La xantopterina es un derivado de las pterinas, pigmento encontrado en insectos y mamíferos, utilizada en el tratamiento de lesiones del epitelio corneal. El objetivo del estudio fue conocer su efecto en el tratamiento de las úlceras por quemaduras en ratas.

**Material y métodos:** Se emplearon 23 ratas Holtzman, a quienes se les produjo quemaduras de 4mm en el dorso depilado, en cuatro regiones distintas. La úlcera del cuadrante superior derecho fue tratada con xantopterina 0.1%. El cuadrante inferior derecho con xantopterina 0.3%, y los cuadrantes izquierdos con vaselina. La aplicación de los ungüentos se realizó cada 12 horas por seis días consecutivos, luego de los cuales se procedió al estudio anatómico-patológico de piel. Los tres grupos de estudio dependieron del tratamiento empleado: vaselina, xantopterina 0.1% y xantopterina 0.3%. Las variables de respuesta fueron: longitud de reepitelización, formación de fibroplasia y angiogénesis.

**Resultados:** La media de reepitelización en el grupo vaselina fue de 0.33mm, de 0.45mm en el grupo xantopterina 0.1% y 0.57mm cuando se empleó xantopterina 0.3%. En el grupo vaselina el 41.3% completó la fibroplasia, 52.3% en el de xantopterina 0.1% y 54.5% en el de xantopterina 0.3%. El promedio de nuevos vasos por campo de cinco aumentos fue de 9.85 vasos/campo en el grupo vaselina, 9.57 en el de xantopterina 0.1% y 16 en el de xantopterina 0.3%. Se encontró diferencia estadísticamente significativa en la variable reepitelización entre el grupo tratado con xantopterina 0.3% y el grupo vaselina; igualmente entre xantopterina 0.3% y los demás grupos en la angiogénesis. No se observaron diferencias en la variable fibroplasia.

**Conclusiones:** La xantopterina tiene efectos positivos en la curación de heridas por injuria térmica, tanto en el aspecto de reepitelización como en la angiogénesis, siendo la concentración más eficaz la de 0.3%.

**Palabras claves:** Xantopterina, Cicatrización, Heridas por quemadura.

### SUMMARY

**Introduction:** Xanthopterin is a pterines derivate pigment found in insects and mammals, used in the treatment of corneal epithelium lesions. The objective was to study the effect of this molecule in the treatment of burns in rats.

**Methods:** 23 Holtzman rats were used; burn was produced in 4 areas of 4mm each on the previously shaved dorsal area of the animal. The ulcer of the right superior quadrant was treated with xantopterina 0.1%. Likewise, the one in the right inferior quadrant was treated with xantopterina 0.3%, while both left quadrants were treated with vaseline. The application of the ointment was made every 12 hours for six consecutive days, after which a biopsy and the anatomy-pathologic study from the skin lesions were performed. There were three groups depending on the treatment used: vaseline, Xantopterine 0.1% and Xantopterine 0.3%, Response variables were: length of re-epithelialization, fibroplasy formation and angiogenesis.

**Results:** The mean reepithelialization in group vaseline was 0.33mm, 0.45mm in group xanthopterin 0.1% and 0.57mm in xanthopterin 0.3%. In the vaseline group 41.3% completed fibroplasia, 52.3% for xanthopterin 0.1% and 54.5% for xanthopterin 0.3%. The average new vessels per field was 9.85 vessels/field in the vaseline group, 9.57 in xanthopterin 0.1% and 16 in the xanthopterin 0.3%. Statistically significant difference was found in the variable re-epithelialization between the group treated with 0.3% xanthopterin and vaseline group; equally between xanthopterin 0.3% and other groups in angiogenesis. No differences in the variable fibroplasia.

**Conclusions:** Xanthopterin has positive effects in the epithelial regeneration after thermal injuries, both in terms of re-epithelialization as in vascular growth, being the most effective concentration of 0.3%.

**Key words:** Xanthopterin, Healing, Burn wounds

<sup>1</sup> Médico residente del Servicio de Dermatología, Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima-Perú.

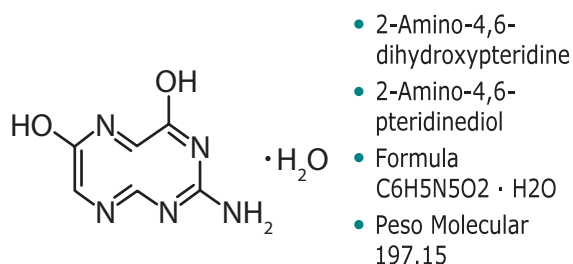
<sup>2</sup> Médico asistente del Servicio de Dermatología, Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima-Perú.

## INTRODUCCIÓN

La integridad de la piel es vital para que el órgano cutáneo desarrolle las funciones de protección y de relación con el medio ambiente. La pérdida de estas funciones a causa de las lesiones por quemaduras, expone al organismo a severo estrés<sup>1-8</sup>. Durante la fase proliferativa del proceso de cicatrización, que comienza 24 horas después de ocurrida la lesión hasta 6 a 7 días después, suceden varios procesos fisiológicos que ocurren de manera superpuesta. Es en esta etapa donde podemos observar los siguientes cambios reconocidos histológicamente:

- La reepitelización: proceso mediante el cual los queratinocitos basales de los bordes de la úlcera se aplanan y migran para poder cubrir el tejido de granulación que está en formación.
- La angiogénesis: proceso en donde se forman nuevos capilares a partir de células endoteliales que migran hacia el tejido cicatricial, estimuladas por diversas moléculas endógenas como los factores de crecimiento y otros factores (heparina, fibronectina y FGDP, VEGF, FGF, bajas tensiones de oxígeno y ácido láctico).
- La fibroplasia: proliferación de fibras colágenas a partir de los fibroblastos de la dermis que van ocupando el espacio correspondiente a la nueva dermis.

En la actualidad existen múltiples moléculas en el tratamiento regenerativo de las heridas producidas por quemaduras, pero se desconoce el mecanismo de acción de la mayoría de ellas; igualmente hay una falta de estudios clínicos y experimentales de dichas moléculas. La xantopterina es una molécula utilizada desde hace aproximadamente 40 años en el tratamiento tópico de las lesiones del epitelio de la córnea. Derivado de las pterinas, pigmento obtenido de las alas de las mariposas, avispas y orina de algunos mamíferos, posee un peso molecular de 197.15D y está conformada por un anillo pirazina y un anillo pirimidina (**Figura 1**).



**Figura 1.** Molécula de xantopterina

Es utilizada de manera tópica en el tratamiento de patologías que comprometen la integridad del epitelio corneal. Aunque su mecanismo de acción aún no esté bien

aclarado, se ha observado que actúa estimulando la actividad en el proceso de cicatrización del tejido corneal. Además, la actividad de reparación epitelial de la xantopterina es más eficaz en los casos de lesiones traumáticas y químicas, con una buena tolerabilidad del ojo humano<sup>4-6</sup>.

Algunos estudios demuestran que se detiene la actividad mitocondrial de las células carcinogénicas de mama y de otros cultivos de células carcinogénicas en animales. Asimismo promueven la proliferación celular de la médula ósea en distintos estudios en seres humanos y animales<sup>8-12</sup>.

La evidencia clínica actual demuestra que la xantopterina es útil para la regeneración del epitelio corneal en seres humanos, pero no existen estudios o ensayos clínicos sobre los efectos en tejido cutáneo, así mismo se desconoce las concentraciones útiles para dicho fin<sup>3-7</sup>. Conociendo la utilidad de esta molécula sobre el tejido epitelial corneal, se postula su utilidad sobre epitelio cutáneo, puesto que son células de origen común.

Los objetivos de este estudio fueron conocer la utilidad de esta molécula en la reparación de tejidos cutáneos lesionados por efectos térmicos; así mismo conocer la concentración más eficaz sobre úlceras en quemaduras de piel en ratas.

La xantopterina podría ser una alternativa en el tratamiento de lesiones térmicas de segundo grado o de otras patologías cutáneas que impliquen reparación del epitelio cutáneo, que presenten reacciones adversas a otras moléculas utilizadas con esta finalidad.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Trabajo de investigación de tipo experimental, longitudinal y prospectivo que mide el efecto de la xantopterina (variable independiente) en la longitud de reepitelización, la fibroplasia y la neovascularización de heridas por quemaduras (variables dependientes).

Para el cálculo del tamaño de la muestra se tomó en consideración el resultado de la diferencia entre las medidas milimétricas de las heridas de ratas del estudio y se usó el programa de computador POWER AND SAMPLE SIZE CALCULATIONS versión 2.1.3.1 donde se calculó una muestra de 19 ratas para un nivel de significación del 5%, potencia del 90%, diferencia de 0.15 y desviación estándar de 0.2. Se incluyeron 23 ratas en el estudio por la posibilidad de posibles muertes debidas al procedimiento.

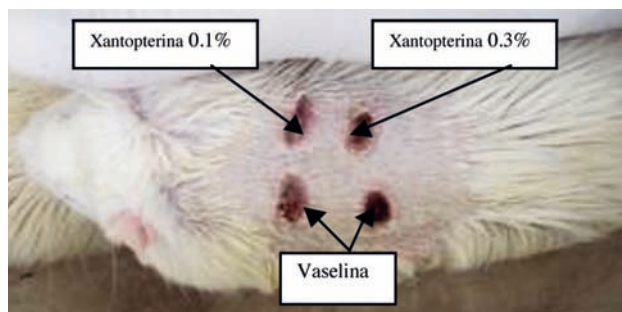
Los criterios de inclusión fueron: ratas experimentales de laboratorio, de sexo masculino, adultas con una edad de tres meses y peso promedio de 300g, a las que se les ha producido una injuria térmica equivalente y controlada.

Se utilizaron de forma aleatoria 23 ratas adultas de la raza Holtzman, de sexo masculino, con una edad de tres meses y un peso promedio de 300g, procedentes del

laboratorio de la Facultad de ciencias de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Dado que el tamaño del animal es adecuado para realizar experimentos en piel sobre el proceso de cicatrización, aceptando la diferencia entre distintas especies, ésta es similar al ser humano; se tomaron también en cuenta las normas éticas de experimentación en animales. Se sometieron a un periodo de adaptación de siete días en jaulas individuales con agua y alimentación ad libitum, bajo condiciones controladas de temperatura (24°C), humedad relativa (70%) y con un foto-periodo de 12h de ciclo de luz y 12h de oscuridad. El proyecto se realizó en el bioterio de la Facultad de ciencias de la UPCH<sup>13-15</sup>.

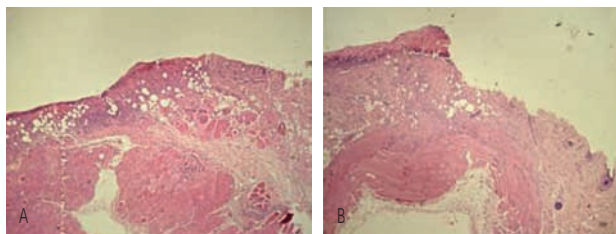
Las ratas se anestesiaron intraperitonealmente con una combinación de ketamina 65mg/kg y xilocaína 10mg/kg, dosis recomendada en procedimientos en roedores. Luego se les produjo una quemadura en un área de 4mm de diámetro con un aparato de cauterización eléctrica manual modelo Acucautery de 2 200° Fahrenheit de temperatura equivalente a 1 200°C, dicho instrumento es usado en cirugía de dermatosis a nivel de epidermis en seres humanos, es posible alcanzar altas temperaturas para asegurar la eficacia y rapidez del procedimiento.

La quemadura se logró por contacto directo de un disco sobre el área dorsal del animal, previamente depilada, sobre ambas escápulas y a dos centímetros por debajo del ángulo inferior de las escápulas; se le aplicó una quemadura de 1 200° C por un tiempo estandarizado de dos segundos (**Fotografía 1**). Ambas úlceras de la mitad izquierda fueron tratadas con vaselina. La úlcera del cuadrante superior derecho se manejó con xantopterin al 0.1% en vaselina sólida, mientras que el cuadrante inferior derecho se manejó con xantopterin 0.3% en vaselina sólida (**Fotografías 2, 3 y 4**). Las concentraciones de xantopterin al 0.1% y al 0.3% purificadas fueron preparadas en vaselina sólida por un químico farmacéutico.

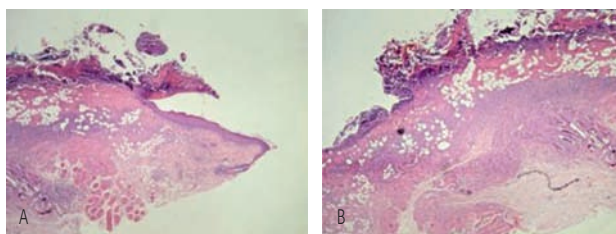


**Fotografía 1.** Rata depilada, posterior a quemadura térmica, a la cual se han aplicado los esquemas en prueba.

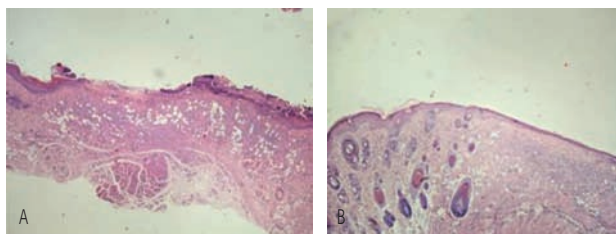
La aplicación programada del ungüento se realizó cada 12 horas por seis días consecutivos, para lo cual se utilizaron hisopos estériles, formado una capa fina del medicamento sobre la piel lesionada. Al sexto día de inducida la quemadura, se realizó la eutanasia de todos los roedores mediante una sobredosis de pentotobarbital sódico intraperitoneal (100mg/kg de peso)<sup>13,16-19</sup>.



**Fotografía 2 (A y B).** Muestras anatómo-patológicas de la úlcera manejada con vaselina. HE (5X)



**Fotografía 3 (A y B).** Muestras anatómo-patológicas de la úlcera manejada con xantopterin al 0.1%. HE 5X.



**Fotografía 4 (A y B).** Muestras anatómo-patológicas de la úlcera manejada con xantopterin al 0.3%. HE 5X.

Inmediatamente después se tomó una muestra de tejido, por escisión quirúrgica de la totalidad de la úlcera cutánea por quemadura con la técnica de losange, se realizó la fijación de la misma en formol neutro buffer al 10 % por 24 horas, procesándose por la técnica clásica de inclusión en parafina; las muestras se cortaron a cinco micras de espesor, coloreándose con hematoxilina-eosina (HE). Las observaciones histopatológicas se realizaron por microscopía óptica a través de un microscopio óptico a cinco (5X) y 40 (40X) aumentos. Se midió, en las muestras anatomopatológicas, la distancia de reepitelización a partir de los bordes de la úlcera con un micrómetro, así mismo se evaluó la presencia completa o incompleta de fibroplasia y la cantidad de nuevos vasos por campo de cinco aumentos.

El análisis de los resultados se realizó en función a los resultados obtenidos en la observación microscópica. La medición en el análisis microscópico arrojó variables de respuesta cuantitativas (migración epitelial desde el borde de la herida y número de vasos neoformados) y cualitativas (formación de fibras colágenas completa o incompleta). Éstas se analizaron a través de la construcción de indicadores, los cuales se compararon usando pruebas t-student para la

evaluación de las variables cuantitativas de reepitelización y neovascularización, y Chi cuadrado para la fibroplasia; para dicha evaluación se usó el paquete estadístico SPSS versión 17.0.

## RESULTADOS

En el grupo en que se usó vaselina se obtuvo una media de reepitelización de 0.33mm, el 41.3% completaron la fibroplasia y el promedio de nuevos vasos por campo de 5X fue de 9.85. En el grupo en que se usó xantopterin al 0.1% se obtuvo una media de reepitelización de 0.45mm, el 52.3% completaron la fibroplasia y el promedio de nuevos vasos fue de 9.57; mientras que en el grupo de xantopterin al 0.3% se obtuvo una media de reepitelización de 0.57mm, el 54.5% completaron la fibroplasia y el promedio de nuevos vasos fue de 16 (Tabla I). Se observó diferencia estadísticamente significativa entre el grupo tratado con xantopterin al 0.3% y el de vaselina en lo que respecta a reepitelización (Gráfico 2); y sobre el grupo de xantopterin al 0.1% y vaselina en lo que respecta a la formación de nuevos vasos (Gráfico 3). Con respecto a la fibroplasia no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tres grupos.

Tabla I. Índices de respuesta (fibroplasia completa, promdios de reepitelización y neovascularización), según grupo de tratamiento.

	Vaselina	Xantopterin 0.1%	Xantopterin 0.3%
Fibroplasia completa	41.3%	52.3%	54.5%
Reepitelización	0.33	0.45	0.57
Neovascularización	9.85	9.57	16.0

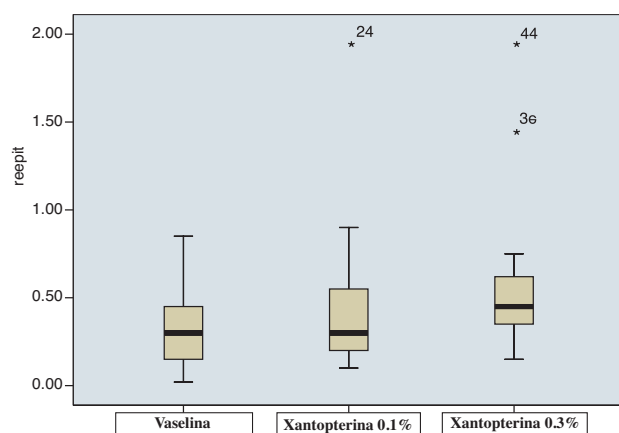


Gráfico 2. Reepitelización según tratamiento.

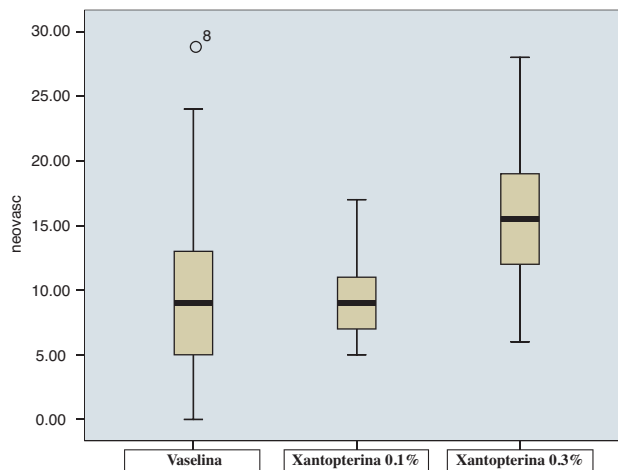


Gráfico 3. Neovascularización según tratamiento.

## DISCUSIÓN

El proceso de cicatrización de una herida por injuria térmica, en la piel, involucra la compleja interacción de muchos tipos de células y ocurre como una cascada secuencial de procesos solapados e íntimamente relacionados, entre los que ocurre la migración epitelial desde los bordes de la ulcera, la formación de tejido de granulación, la neovascularización del nuevo tejido y la producción de fibras colágenas<sup>1-3</sup>.

La cicatrización empieza muy precozmente en el curso de la inflamación, generalmente, 24 horas después de la lesión proliferan los fibroblastos y las células endoteliales, que forman en un período de 3 a 5 días un tejido especializado, denominado tejido de granulación, que es el rasgo fundamental de la curación.

Las moléculas fueron preparadas a las concentraciones del 0.1%, que es la concentración usada y comercializada en el tratamiento de injuria de epitelio corneal, y al 0.3% una concentración tres veces superior, teniendo en cuenta que el epitelio cutáneo cuenta con una capa córnea, además de ser poliestratificado. Ambas concentraciones son comparadas con un placebo inerte que es la vaselina, el mismo compuesto que sirve de excipiente a los preparados de xantopterin.

Los resultados presentados en este estudio indican que el tratamiento de las heridas producidas por injuria térmica, con xantopterin 0.3% en base ungüento presenta una mejor reepitelización y mayor formación de vasos nuevos, aunque no demostró diferencias significativas en la formación de tejido fibroso, parte del tejido de granulación que favorece a la curación del tejido dañado. El mecanismo por que la preparación favoreció a la recuperación de las heridas no es del todo claro; sin embargo, es razonable concluir el efecto positivo de la misma.

Cabe decir también que en el proceso temprano de cicatrización donde actúan de manera conjunta los procesos de reepitelización, neovascularización y fibroplasia, la fibroplasia suele ser el evento fisiológico de presentación más tardía; por tal motivo esta podría ser la causa de no haber encontrado diferencias significativas al sexto día de producida la injuria térmica.

Los efectos positivos de xantopterina se observaron con la concentración del 0.3% en lo que respecta a la reepitelización y neovascularización, la concentración del 0.1% no demostró ser estadísticamente más eficaz que el excipiente.

Este trabajo experimental en animales de una molécula usada en humanos, pero en un tejido epitelial de tipo corneal, también demuestra su eficacia en tejido epitelial de tipo cutáneo, por lo que su uso en tejido cutáneo en humanos

deberá ser estudiado en posteriores investigaciones y así tener una alternativa en el tratamiento de lesiones cutáneas, no sólo aquellas producidas por acciones térmicas, sino además las producidas por otras causas. No se ha encontrado en la literatura científica trabajos similares, del uso de esta molécula en daño de epitelio cutáneo, por lo cual este trabajo es el primero de otras posibles investigaciones.

Se concluye del trabajo que la xantopterina tiene efectos positivos en la regeneración epitelial de heridas por injuria térmica, tanto en el aspecto de reepitelización como en el de neovascularización; se concluye además que la concentración más eficaz es la de 0.3%.

Este trabajo podría abrir estudios en usos de lesiones de la piel por otras noxas. Asimismo la molécula podría formar parte de preparados tópicos de medicamentos diseñados para este fin.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- GONZÁLEZ R. Modelos experimentales para la evaluación de la acción cicatrizante de medicamentos. *Rev Cubana de Farm* 2002;36(3):189-96.
- ORUÑA L, LAGO G, COTO G. Efecto del ácido hialurónico en la cicatrización de heridas en ratas. VI Congreso virtual hispanoamericano de anatomía patológica. 2004.
- WIJNEN B, LEERTOUWER H, STAVENGA DG. Colors and pterin pigmentation of pierid butterfly wings. *J Insect Physiol* 2007;53(12):1206-17.
- BUCCI MG. Sullazione della xantopterina nelle lesioni traumatiche sperimentali della cornea e quale sostanza inibitrice del potere anti-epitelizzante del cortisone. *Clinica oculistica dell'universita di Roma*. 1963;42(10):638-53.
- GUERRERO-GODÍNEZ MA, FRANCO-BOURLAND RE, GUÍZAR-SAHAGÚN CG, CERVANTES VG. Estandarización de la técnica para la obtención de células mesenquimatosas de médula ósea de rata para su aplicación en el manejo de lesiones medulares. *Rev Mex Med Fis Rehab* 2005;17(3):84-90.
- DE VICENTIIS M. Effect of the xanthopterin on the experimental wounds of the cornea. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1959;37:290-3.
- NORRIS E, SIMMONS R. The hematopoietic activity of xanthopterin in young salmon. *J Biol Chem* 1944;14:449-53.
- AVNIEL S, ARIK Z, MALY A, SAGIE A, BASST HB, YAHANA MD, et al. Involvement of the CXCL12/CXCR4 pathway in the recovery of skin following burns. *J Invest Dermatol* 2006;126(2):468-76.
- LORD JL, DE PEYSTER A, QUINTANA PJ, METZGER RP. Cytotoxicity of xanthopterin and isoxanthopterin in MCF-7 cells. *Cancer Lett* 2005;222(1):119-4.
- MOHENO PB; SRI International; Arizona Cancer Center, University of Arizona Health Sciences Center; San Diego Research. Calcium pterin as an antitumor agent. *Int J Pharm* 2004;271(1-2):293-300.
- NORRIS E, SIMMONS R. Xanthopterin, the fish anemia factor. *J Biol Chem* 1941;679-80.
- BIESELE JJ, BERGER RE. The effect of xanthopterin and related agents on the proliferation of rabbit marrow cells in vitro. *Cancer Res* 1950;10(11):686-93.
- MARCONDES L, MASAKO L, SIMÕES M, ALVES O. Experimental model of double wounds on the rats back, in order to study the skin cicatrization process on rat treated with cellulose coat. *Acta Cir Bras* 2003;18:65-8.
- DANTAS FILHO AM, AGUIAR JL, ROCHA LR, AZEVEDO IM, RAMALHO E, MEDEIROS AC. Effects of the basic fibroblast growth factor and its anti-factor in the healing and collagen maturation of infected skin wound. *Acta Cir Bras* 2007;22(Suppl 1):64-71.
- RODRÍGUEZ E. Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. *Acta bioeth* 2007;13(1):25-40.
- DEL CAÑIZO J, LÓPEZ D, LLEDÓ E, GARCÍA P. Diseño de modelos experimentales en investigación quirúrgica. *Actas Urol Esp* 2008;32(1):27-40.
- TINOCO Z, SAENZ D. Investigación científica: Protocolos de investigación. *Fármacos* 1999;12(1):78-101.
- YANG L, CHAN T, DEMARE J, IWASHINA T, GHAHARY A, SCOTT PG, et al. Healing of burn wounds in transgenic mice over expressing transforming growth factor-beta 1 in the epidermis. *Am J Pathol* 2001;159(6):2147-57.
- International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *N Engl J Med* 1997;336:309-15.

El Círculo Dermatológico del Perú organiza dentro de sus actividades de proyección a la comunidad

La Campaña de Educación, Prevención y Detección Temprana del Cáncer de Piel y Melanoma denominada

## "El Día del Lunar"

El primer domingo de febrero de cada año

Agradecemos a los gobiernos locales, entidades del sector público y privado y médicos dermatólogos que colaboran en esta campaña y los exhortamos a seguir contribuyendo con su esfuerzo al éxito de la misma en beneficio de nuestra población y nuestro país.



Resolución Ministerial n° 286-99 - SA/DM  
10 de Junio de 1999