

Propuesta de modelado bioeléctrico de la cicatrización de heridas

M.A. Callejón Leblic¹, L.M. Roa Romero^{1,2}, J. Reina Tosina^{3,2}.

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

³ Depto. de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

Resumen

La implicación de los campos eléctricos endógenos en el proceso de cicatrización de las heridas es un fenómeno demostrado. De hecho, se considera uno de los principales mediadores en el proceso de migración celular. En este trabajo se presenta una primera propuesta de modelado bioeléctrico de la cicatrización de heridas, basada en los fenómenos electroquímicos más relevantes que se producen durante la misma. Para ello se han considerado los principales iones y células involucrados en el proceso como portadores de cargas positivas y negativas capaces de generar un campo eléctrico. A partir de la densidad de cargas positivas se ha estimado la dinámica del pH, que se ha comparado con curvas experimentales reportadas en la literatura, para mostrar la validez del modelo propuesto.

1. Introducción.

Una herida representa la pérdida de continuidad de la piel, y por tanto, una interrupción de su función protectora. Cuando se pierde todo el epitelio y queda la dermis al descubierto, se inicia el proceso de cicatrización [1]. Éste consiste en la restitución del tejido dañado, y engloba gran cantidad de fenómenos electroquímicos de elevada complejidad [2]-[3].

La participación de campos eléctricos endógenos en el proceso de cicatrización de las heridas es bien conocida. Ya en los siglos XVIII y XIX, científicos como Galvani, Aldini, Matteucci y du Bois-Reymond reportaron valores de voltajes y corrientes en tejidos dañados [4]. Desde entonces, la investigación ha avanzado en el estudio de la implicación del campo eléctrico endógeno como mediador en el proceso de migración celular [5]. Las células migran y se colocan en lugares estratégicos para la posterior proliferación y diferenciación [6]. Para una migración efectiva, las células deben saber cuándo y hacia dónde migrar [7]. Dicho proceso es fundamental, pues una migración defectuosa puede causar trastornos más graves, como ulceraciones o heridas crónicas [8]. Se ha observado que el campo eléctrico endógeno es una de las principales señales-guía en dicho proceso [9]. En este sentido, existen estudios experimentales sobre la aplicación y medida de campos eléctricos en heridas y otros tejidos dañados [10]-[12], así como numerosos estudios clínicos [13]-[14]. Sin embargo, se echa en falta investigación en modelos teóricos de base bioeléctrica

que permitan explicar la implicación de los campos eléctricos endógenos en el proceso de cicatrización.

En este trabajo se presenta una primera propuesta de modelo bioeléctrico de la cicatrización, atendiendo a la fisiología del proceso y a los principales fenómenos electroquímicos que se producen durante el mismo, y que se explican en la Sección 2. Para la validación del modelo se han calculado curvas de pH que han sido comparadas con las experimentales obtenidas en la literatura [15], las cuales se muestran en la Sección 3.

2. Materiales y métodos.

La metodología seguida en este trabajo ha consistido en obtener un modelo bioeléctrico de la cicatrización basándonos en el estudio de los fenómenos electroquímicos identificados en la revisión de la fisiología del proceso.

2.1. Fisiología de la cicatrización de heridas.

El proceso de cicatrización se divide en varias fases: inflamatoria, en la que los glóbulos blancos colonizan la herida para cumplir su función inmune; granulación, en la que se repara la dermis mediante la fabricación de nuevo colágeno; y reepitelización, en la que los queratinocitos migran desde los bordes de la herida hacia el centro de la misma para cerrarla [16]. Una vez que las células se han posicionado en los lugares adecuados, comienzan a proliferar y a diferenciarse para completar el proceso de cierre de la herida [17].

Cuando se produce la herida, las células dañadas comienzan a consumir ATP, en un proceso de autólisis [18]. Como producto de la reacción de consumo de ATP, se liberan iones H^+ en la herida, que se traduce en un aumento de la acidez del medio, o lo que es lo mismo, una disminución del pH, que puede tomar valores muy bajos, entre 5 y 3 [15]. La relación entre pH y concentración de iones H^+ es bien conocida:

$$pH = -\log_{10}[H^+] \quad (1)$$

donde $[H^+]$ es la concentración molar en moles/litro.

2.2. Hipótesis de modelado.

Debido al aumento de iones H^+ en la herida, aparece una diferencia de concentración de cargas positivas entre el

tejido dañado y el ileso, lo que crea un campo eléctrico endógeno al cuál se asocian los siguientes efectos:

- Los glóbulos blancos, cargados negativamente [19], son atraídos hacia el interior de la herida por el exceso de cargas positivas, dando comienzo a la fase inflamatoria. Además de estas células, diversos iones como Cl^- y fosfatos $(\text{PO}_4)^-$ son arrastrados y difundidos hacia el centro de la herida [20].
- Los iones H^+ generados cuando se produce la herida, son arrastrados por el campo eléctrico desde el centro de la herida hacia los bordes de la misma. Además de a esta componente de arrastre, están sometidos a un proceso de difusión y a una alta tendencia a la recombinación. Estos procesos son los responsables de la desaparición paulatina de dichos iones del centro de la herida [21]. Esta hipótesis concuerda con el hecho de que el pH cambie durante el proceso de cicatrización [15].
- Los células no dañadas que rodean la herida pueden modelarse como pequeñas esferas cargadas negativamente en su membrana exterior [19], de forma que al estar sometidas a este campo eléctrico, una fuerza de electroforesis puede arrastrarlas hacia el centro de la herida. Esta hipótesis explicaría la implicación del campo eléctrico como mediador en el proceso de migración celular.

Estos procesos se ilustran esquemáticamente en las Figuras 1 y 2.

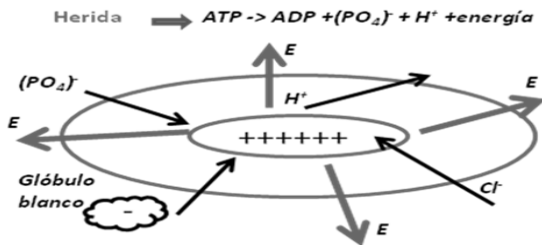


Figura 1: Implicación del campo eléctrico durante la fase de inflamación. Adaptado de [20].

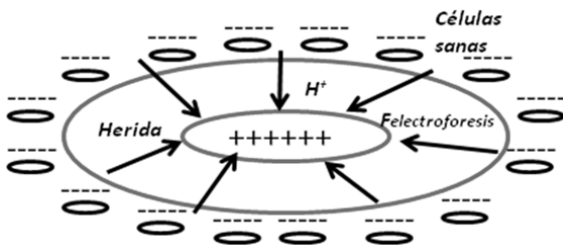


Figura 2: Implicación del campo eléctrico durante la migración celular.

2.3. Modelo propuesto.

El modelo se basa en el estudio de la dinámica de todas aquellas partículas con carga involucradas en el proceso de cicatrización. Se han considerado los iones H^+ como

portadores de carga positiva, por un lado; y los glóbulos blancos, iones Cl^- , $(\text{PO}_4)^-$ y células sanas que rodean los bordes de la herida, como portadores de carga negativa, por otro.

En primer lugar, se ha modelado la generación de iones H^+ , como consecuencia del consumo de ATP. Según se propone en (2), el comportamiento dinámico se establece como un sistema lineal de primer orden, cuya solución vendrá dada por una curva exponencial creciente.

$$\tau \frac{dp}{dt} + p = Ku \quad (2)$$

donde

- p ($1/\text{cm}^3$) representa la densidad de iones H^+ .
- τ el coeficiente de generación de iones hidrógeno (s).
- $K = p_f - p_0$ es la diferencia de densidad de iones H^+ que aparece como consecuencia de la lesión.
- u es una señal escalón, que modela la generación de iones H^+ durante la etapa inicial de la herida.

Posteriormente se ha modelado la dinámica de cargas positivas y negativas hasta la finalización del proceso de cicatrización (3)-(4), considerando sendos términos de arrastre y difusión, para ambos tipos de carga, (segundo y tercer miembros en (3) y (4)), un término λ que modela la recombinación de los iones H^+ , y un término g que modela la generación de cargas negativas, como consecuencia de la diferenciación y proliferación celular durante la fase de reepitelización.

$$\frac{\partial p}{\partial t} = \lambda - u_p \nabla \cdot (p \vec{E}) + D_p \nabla^2 p \quad (3)$$

$$\frac{\partial n}{\partial t} = g + u_n \nabla \cdot (n \vec{E}) + D_n \nabla^2 n \quad (4)$$

donde

- n ($1/\text{cm}^3$) representa la densidad de cargas negativas.
- D_p y D_n (cm^2/s) son los coeficientes de difusión de iones H^+ y cargas negativas, respectivamente.
- λ y g (portadores/s) son los términos de recombinación de iones H^+ y generación de cargas negativas, respectivamente.
- u_p y u_n (cm^2/Vs) son las movilidades de los iones H^+ y de las cargas negativas, respectivamente.
- \vec{E} es el campo eléctrico endógeno, que en una primera aproximación se considerará uniforme.

3. Resultados.

3.1. Simulación del modelo.

Para la resolución de las ecuaciones se ha considerado un intervalo de 12 días, tiempo medio de cicatrización de una

herida aguda [15], si bien la duración del proceso es variable en función de múltiples factores (tamaño y tipo de herida, infección, tratamiento, etc). Hemos supuesto que la generación de iones H^+ se mantiene durante los dos primeros días. La herida se ha considerado con una geometría circular y de radio igual a 1 cm.

Se resolvió (2) en Matlab, cuya solución se presenta en la Figura 3. Para ello se tomó p_0 como la densidad de iones H^+ inicial propia del pH normal de la piel, en torno a 6.3, y p_f la propia del pH de la piel dañada al comienzo de la fase inflamatoria, en torno a 4 [15]. El valor de τ seleccionado ha sido 0.5 s y se ha obtenido a partir del ajuste de la curva de pH teórica con la experimental [15]. Para el cálculo de pH (véase la Figura 4) el procedimiento sólo consiste en aplicar (1) a la solución de (2).

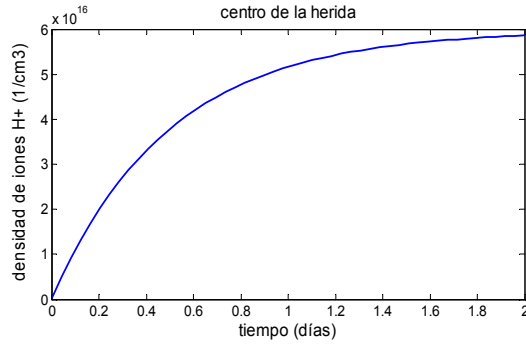


Figura 3: Generación de iones H^+ en el centro de la herida.

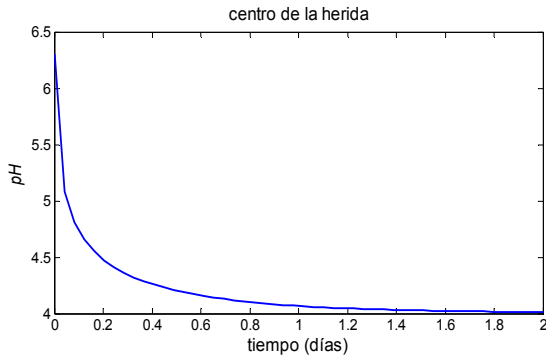


Figura 4: Disminución del pH en el centro de la herida al comienzo de la fase de inflamación.

Dada la geometría del problema, el campo eléctrico se puede considerar únicamente dependiente de la coordenada radial, según (5), y en una primera aproximación se ha supuesto que su valor es constante e igual a 100 mV/cm, dentro de los órdenes de magnitud encontrados en la bibliografía [19].

$$\vec{E} = E_r \vec{u}_r \quad (5)$$

Si usamos coordenadas cilíndricas y consideramos la expresión dada en (5), las ecuaciones (3) y (4) se traducen en (6) y (7).

$$\frac{\partial p}{\partial t} = \lambda - u_p \frac{1}{r} \frac{\partial (rpE_r)}{\partial r} + D_p \frac{1}{r} \frac{\partial^2 (rp)}{\partial r^2} \quad (6)$$

$$\frac{\partial n}{\partial t} = g + u_n \frac{1}{r} \frac{\partial (rnE_r)}{\partial r} + D_n \frac{1}{r} \frac{\partial^2 (rn)}{\partial r^2} \quad (7)$$

Se resolvieron (6) y (7) usando el toolbox de Matlab para ecuaciones en derivadas parciales. Los valores asignados a los parámetros del modelo fueron:

$$\lambda = \frac{1}{\tau_p} \frac{\partial p}{\partial r} \quad (8)$$

$$g = n / \tau_n \quad (9)$$

donde

- τ_p y τ_n representan respectivamente, la velocidad de recombinación de iones H^+ y de generación de portadores negativos, y han sido ajustados a partir de la comparación de las curvas de pH teóricas con las experimentales.
- $u_p = 5.7e-3$ y $u_n = 0.16$ (cm^2/Vs) [19].
- D_n y D_p se han obtenido mediante las relaciones de Einstein.

$$\frac{D_{p,n}}{u_{p,n}} = \frac{K_B T}{q} \quad (10)$$

- $K_B = 1.38e-23$ J/K es la constante de Boltzman; $q = 1.6e-19$ C es la unidad de carga y T es la temperatura en Kelvin (se ha considerado 37°C).

Como condición de frontera se impuso que en los bordes de la herida el pH debe tener su valor normal. La solución puede verse en las Figuras 5 y 6. En la Figura 7 se representa la curva de pH asociada.

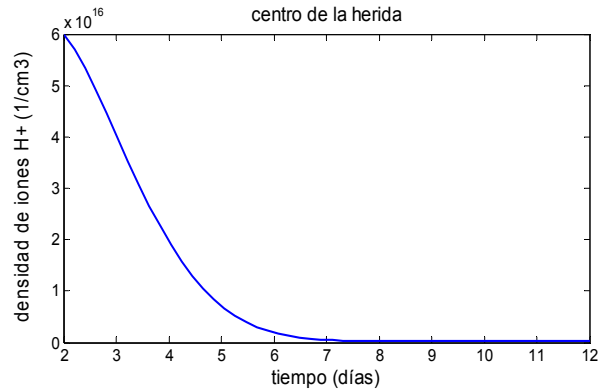


Figura 5: Dinámica de iones H^+ en el centro de la herida durante la granulación y reepitelización.

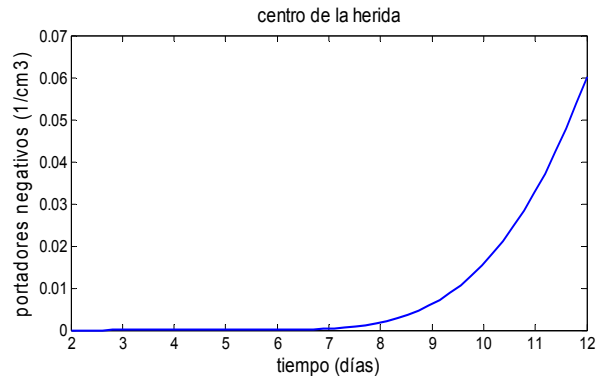


Figura 6: Dinámica de portadores negativos en el centro de la herida durante la granulación y reepitelización.

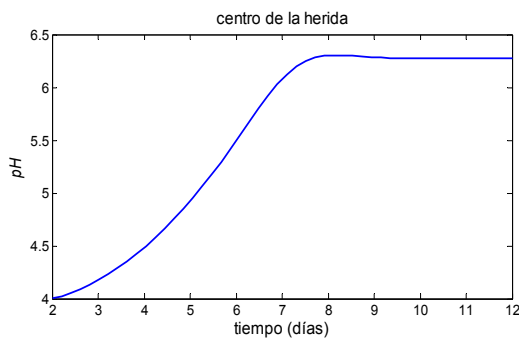


Figura 7: Dinámica del pH en el centro de la herida durante la granulación y reepitelización.

3.2. Discusión de los resultados

Como puede verse en la Figura 3, la generación de iones H^+ aumenta de forma exponencial al comienzo de la lesión, según (2). En la Figura 4 se aprecia que el pH de la piel pasa de su valor normal a un valor en torno a 4. El exceso de cargas positivas en la zona dañada crea un campo eléctrico que arrastra las partículas positivas hacia fuera de la herida y las negativas hacia el centro. A su vez, los iones H^+ se recombinan y difunden hacia los bordes de la herida conforme avanza la cicatrización, por lo que van desapareciendo del centro de la misma. Estos procesos han sido modelados mediante los correspondientes términos en (6) y el resultado se presenta en la Figura 5. Por otro lado, las cargas negativas están sometidas a los mismos procesos pero en sentido contrario, por lo que aumentan de forma progresiva en el centro de la herida, como puede verse en la Figura 6. El pH tiende a aumentar desde el valor obtenido al final de la fase inflamatoria hasta su valor normal (Figura 7). Este comportamiento coincide con los resultados publicados en la literatura ([15],[22]).

4. Conclusión

Este primer modelo bioeléctrico de la cicatrización pretende servir de ayuda en el estudio de la implicación de los campos endógenos en el proceso de curación de heridas. Como líneas de futuro avance se considerará la dinámica temporal del campo eléctrico. Además, se realizarán simulaciones para distintos tamaños y tipos de heridas, intentando obtener la dinámica de pH reportada en la literatura para heridas crónicas, identificando la evolución de las variables significativas en el proceso, y que podrán ser de ayuda no sólo en el diagnóstico, sino también en la planificación de procedimientos de electroterapia que aceleran el proceso de cicatrización.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa, Junta de Andalucía, a través del proyecto P08-TIC-04069.

Referencias

- [1] Armijo M, Camacho F. Tratado de Dermatología. Grupo S.A. Aula Médica. Madrid 1998. (ISBN: 84-7885-184-4).
- [2] Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol. Surg.*, vol 31, 2005, pp 674-86.
- [3] Bielsa I. Proceso de cicatrización de las heridas. *Piel*, vol 21, sup 4, 2006, pp. 207-12.
- [4] Geddes LA. The Beginnings of Electromedicine. *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.*, vol 3, 1984, pp. 13-21.
- [5] Nuccitelli R. A Role for Endogenous Electric Fields in Wound Healing. *Current Topics in Developmt. Biol.*, vol 58, 2003, pp. 1-26.
- [6] Raja K., Sivamani M et al. Re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Frontiers in Bioscience*, vol 12, 2007, pp. 2849-68.
- [7] Hunt TK. The physiology of wound healing. *Ann. of Emerg. Med.*, vol 17, 1988, pp. 1265-73.
- [8] Eaglstein WH, Falanga V. Chronic wounds. *Surg. Clin. North. Am.*, vol 77, 1997, pp. 689-700.
- [9] Zhao M, Song B, et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gamma and PTEN. *Nature*, vol 442, 2006, pp. 457-60.
- [10] Zhao M. Electrical fields in wound healing—An overriding signal that directs cell migration. *Sem. Cell & Develop. Biol.*, vol 20, sup 6, 2009, pp. 674-82.
- [11] Jennings J, Chen D, Feldman D: Transcriptional response of dermal fibroblasts in direct current electric fields. *Bioelectromagnetics*, vol 29, sup 5, 2008, pp. 394-405.
- [12] Goldman R, Pollack S. Electric fields and proliferation in a chronic wound model. *Bioelectromagnetics*, vol 17, sup 6, 1996, pp. 450-57.
- [13] Kloth LC. Electrical Stimulation for Wound Healing: A Review of Evidence From In Vitro Studies, Animal Experiments, and Clinical Trials. *Int. J. Low Extreme Wounds*, vol 4, sup 23, 2005.
- [14] Baker LL, Rubayi S, Villar F, DeMuth SK. Effect of electrical stimulation waveform on healing ulcers in humans with spinal cord injuries. *Wound Repair Regen.*, vol 4, 1996, pp. 72-9.
- [15] Schneider LA., Korber A, et al. Influence of pH on wound-healing: a new perspective for wound-therapy? *Arch. Dermatol. Res.*, vol 298, 2007, pp: 413-20.
- [16] Nordestrom, BEW. Biologically Closed Electric Circuits. Stockholm, Nordic Med. Publ., 1983. (ISBN: 91-970432-0-6).
- [17] Arenas J. Las heridas y su cicatrización. Offarm, 2003. <http://external.doyma.es/pdf/4/4v22n05a13047753pdf001.pdf>. (Consultada: Junio 2010).
- [18] Nordestrom, BEW. The Paradigm of Biologically Closed Electric Circuits (BCEC) and the formation of an International Association (IABC) for BCEC Systems. *Eur. J. Surg.*, vol 574, 1994, pp. 7-23.
- [19] Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiología Médica. 11 Ed. Elsevier, 2006 (ISBN: 8481749265).
- [20] D'O'Clock G. Electrotherapeutic Devices: Principles, Design, and Applications. Artech House, Boston, 2007. (ISBN: 978-1-59693-0777-3)
- [21] Schreml S, Szeimies RM, et al. The impact of the pH value on skin integrity and cutaneous wound healing. *J. Comp. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2009.
- [22] Sharpe JR, Harris KL, et al. The effect of pH in modulating skin cell behaviour. *British J. Dermatol.*, 2009.