



TERAPIA CELULAR PARA EL TRATAMIENTO DE ÚLCERAS CRÓNICAS

CELL THERAPY IN CHRONIC ULCERS TREATMENT

Amaru Ricardo*, Miguez Hortencia, Quispe Teddy, Quisbert Edwin, Miranda Andrés, Mamani Josue, Torres Gina, Peñaloza Rosario, Cuevas Heriberto.

RECIBIDO: 28/08/2015

ACEPTADO: 17/02/2016

RESUMEN

Introducción.- Las úlceras por presión son producto de una necrosis isquémica en la piel y tejido subcutáneo, se presentan en pacientes inmovilizados por etiología diversa, y en estadios avanzados incrementan la mortalidad.

La terapia celular con Células Madre Somáticas, que se diferencian y proliferan a células maduras funcionalmente normales, tiene la finalidad de reparar la función de tejidos lesionados.

Objetivo.- Evidenciar la eficacia de las Células Madre Somáticas de médula ósea en la reparación de úlceras crónicas por presión, como una posibilidad terapéutica en los tratamientos convencionales no exitosos.

Método.- Se estudió 4 pacientes con úlceras crónicas por presión en estadios avanzados y refractarias a tratamiento convencional. Se obtuvieron Células Madre Somáticas de la médula ósea del esternón, y se procedió al sembrado de las mismas una vez por semana.

Resultados.- Las Células Madre Somáticas sembradas en las úlceras crónicas se diferenciaron en tejido muscular, conjuntivo, subcutáneo y epitelial en un periodo comprendido entre 30 a 69 días.

Conclusión.- La terapia celular con Células Madre Somáticas de médula ósea se constituye en una posibilidad terapéutica en úlceras crónicas de estadios avanzados y refractarias a tratamiento convencional.

Palabras claves: Terapia Celular, Bolivia, Células Madre Somáticas.

ABSTRACT

Introduction: Chronic pressure ulcers result from an ischemic necrosis of the skin and subcutaneous tissue. This type of ulcers occurs in patients physically restrained by different etiology and in advanced stages increase mortality.

Cell therapy allows to regenerate the function of injured tissues by using somatic stem cells that differentiate and proliferate into mature cells in order to repair injured tissues.

* Unidad de Biología Celular, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz - Bolivia.

Correspondencia: Ricardo Amaru e-mail: amaru.ricardo@icloud.com

Unidad de Biología Celular; Facultad de Medicina; Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia

Objective: To demonstrate the effectiveness of using Somatic Stem Cells obtained from bone marrow in chronic pressure ulcers treatment, as a likely therapeutic option to unsuccessful conventional treatments.

Method: It was studied 4 patients with chronic pressure ulcers in advanced stages and refractory to conventional treatment. It was obtained Somatic Stem Cells from the bone marrow and followed a process of seeding on a weekly basis.

Results: Somatic Stem Cells seeded in chronic pressure ulcers differentiated into muscle, connective, epithelial and subcutaneous tissues. The repair of injured tissues lasted between 30 to 69 days.

Conclusion: Cell therapy by using Somatic Stem Cells from bone marrow constitutes a therapeutic option in chronic ulcers of advanced stages and refractory to conventional treatment.

Keywords: Cell Therapy, Bolivia, Somatic Stem Cells.

INTRODUCCIÓN

Las Células Madre son células indiferenciadas que conservan la capacidad de autorrenovarse y diferenciarse a células maduras especializadas. Según su capacidad de diferenciación se distinguen en células totipotenciales, capaces de formar tejidos y órganos; células pluripotenciales, aptos para generar los diversos tipos de células del organismo; y multipotenciales, capaces de diferenciarse en un limitado tipo de células estrechamente relacionadas entre sí¹⁻². Las Células Madre obtenidas del embrión, en la etapa del embrioblasto, se denominan Células Madre Embrionarias; mientras que, las obtenidas de personas adultas se denominan Células Madre Somáticas, cuya fuente principal es la médula ósea³.

La médula ósea alberga dos grupos de células madre: Células Madre Hematopoyéticas (CMH) y Células Madre Mesenquimales (CMM), el primero da origen a células del tejido hematopoyético (leucocitos, eritrocitos y plaquetas) y el segundo a otros tejidos (músculo, hígado, conjuntivo, nervioso, etc.)⁴.

Las úlceras por presión son consecuencia de una necrosis isquémica en la piel y tejido subcutáneo, producidas por la presión ejercida sobre una prominencia ósea. Se presentan en pacientes sin capacidad de movimiento por etiología diversa. Estas úlceras en estadios avanzados (III y IV) aumentan

la morbilidad y la mortalidad.

Las úlceras crónicas son difíciles de tratar y conllevan a largos periodos de convalecencia, algunas veces con pérdida de extremidades e inclusive muerte por sepsis. Se estima que un 60% de pacientes con lesión de columna vertebral (parapléjicos) desarrollarán úlceras por presión⁵⁻⁶. En España, anualmente son atendidos entre 57.000 a 100.000 pacientes con úlceras por presión, de los cuales el 84,7% son mayores de 65 años⁷. En Bolivia, los pacientes parapléjicos tienen un mayor riesgo de presentar úlceras crónicas por presión, ya sea por el abandono del entorno familiar o por la falta de políticas públicas. Estas úlceras generalmente alcanzan estadios avanzados y son refractarias a tratamientos convencionales presentando complicaciones graves.

La terapia celular es un tratamiento médico utilizado para reparar la función de tejidos lesionados, consiste en trasplantar células madre a un órgano receptor en cantidades suficientes para restaurar la estructura y función normal⁸. La terapia con Células Madre Somáticas para regenerar músculos resulta ser un éxito, probablemente porque el músculo esquelético es un tejido dinámico capaz de responder con hipertrofia muscular a estímulos fisiológicos, y restauración del tejido muscular en casos de traumas⁹. La terapia celular también ha sido utilizada con éxito en lesiones graves por radiación en accidentes nucleares¹⁰ y

en lesiones del miocardio secundarias a infarto¹¹.

De esta manera, el presente estudio reporta la aplicación de la terapia celular con Células Madre Somáticas en úlceras por presión de estadios avanzados y refractarias a tratamientos convencionales.

PACIENTES Y MÉTODO

Pacientes

Se estudió 4 casos de pacientes con úlceras crónicas por presión de estadios avanzados y refractarias a tratamiento convencional. La severidad de las úlceras se clasificó de acuerdo al Sistema Internacional de las úlceras por presión de la NPUAP/EPUAP¹² (Cuadro

Nº 1). Las características de las úlceras tratadas con terapia celular se detallan en el Cuadro Nº 2.

Cuadro Nº 1
Sistema de clasificación internacional de las úlceras por presión de la NPUAP / EPUAP

Estadio	Descripción
I	Eritema no blanqueable (que no empalidece) de piel intacta.
II	Pérdida del grosor parcial de la piel o ampolla.
III	Pérdida del grosor total de la piel, es observable el tejido celular subcutáneo.
IV	Pérdida del grosor total de la piel, es observable el músculo y hueso.

Cuadro Nº 2
Características de las úlceras tratadas con Terapia Celular

Úlcera	Localización	Estadio	Dimensiones cm	Profundidad cm	Área cm ²	Edad	Sexo	Comorbilidad
1	Subclavia derecha	III	3 x 3	2	9	32	M	Linfoma
2	Glúteo izquierdo	IV	8 x 8	8	64	35	M	Paraplejía
3	Glúteo derecho	IV	4 x 3	5	12	35	M	Paraplejía
4	Región Sacra	IV	7 x 7	3	49	30	F	Paraplejía

Preparación de Células Madre Somáticas de médula ósea

Las Células Madre Somáticas fueron obtenidas de la médula ósea a través de una punción esternal. Se obtuvo 10 ml de médula ósea, depositadas en tubos Vacutainer con heparina (Vacuette, Becton Dickinson, USA) y transportadas inmediatamente al laboratorio para proceder al aislamiento. Las células mononucleares de médula ósea (CMN) fueron separadas por gradiente de concentración utilizando Ficoll-Hypaque (Sigma-Aldrich, USA) a 1500 rpm durante 30 minutos, posteriormente lavadas en RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, USA) al 10 % de suero fetal bovino (SFB) (Sigma-Aldrich, USA) a 1800

rpm durante 8 minutos. Finalmente, fueron resuspendidas en RPM/SFB 10%. La solución resuspendida fue sometida: 1) Recuento de células mononucleares totales, mediante método de cámara de Neubauer; 2) Análisis de viabilidad celular, mediante método de azul tripan; 3) Criopreservación endimetil-sulfoxido (DMSO) al 10% a -80°C hasta su utilización.

Las úlceras de los pacientes fueron previamente acondicionadas hasta obtener lesiones sin infección ni tejido necrótico. Para la desinfección, se utilizó clorexidina al 0.2% (Hibicle A.V.® espuma 4% Roker-Perú).

Las células fueron descongeladas en baño maría a 37°C, resuspendidas

en RPMI/SFB10%, lavadas en RPMI y posteriormente resuspendidas en plasma rico en factores de crecimiento celular. El sembrado se realizó utilizando una pipeta Pasteur con una frecuencia semanal hasta el recubrimiento total de la úlcera. Todos los pacientes participantes fueron informados y aceptaron participar de acuerdo a

normas de la declaración de Helsinki.

RESULTADOS

Se aplicó terapia celular a 4 pacientes con úlceras crónicas refractarias a tratamiento convencional, utilizando Células Madre Somáticas de médula ósea. La evolución y los resultados se detallan en el Cuadro N°3.

Cuadro N° 3
Respuesta al tratamiento con Terapia Celular

Úlcera	AMO Obtenido mL	CMN cosechadas 106/mL	Viabilidad de CMN %	Volumen Sembrado mL	CMN sembrado 106/mL	Número de sesiones	Velocidad de restauración cm2/día	Tiempo total restauración (días)
1	5	0.7	>99	1	1.5	5	0.3	30
2	10	17.6	>99	2	1.4	8	1.1	56
3	10	5.1	>99	2	1.5	6	0.2	69
4	10	6.4	>99	2	1.0	6	0.8	60

AMO: Aspirado de Médula Ósea, CMN: Células Mononucleadas.

Caso 1

Paciente masculino de 36 años de edad con diagnóstico de Linfoma Nasal NKT, presentó una úlcera en estadio III, secundaria a rechazo de implantación de catéter venoso central subcutáneo localizada en la región subclavicular derecha. Las dimensiones fueron: área 9 cm² y profundidad de 2 cm. La profundidad estaba formada por

la fascia del pectoral mayor.

Se realizó 5 sesiones semanales de sembrados de Células Madre Somáticas de médula ósea. El proceso de restauración de la herida se inició desde fuera hacia el centro (concéntrica) y de fondo hacia la superficie. La úlcera quedó completamente restaurada al día 30, quedando como secuela una pequeña cicatriz. (Figura N° 1).

Figura N° 1
Caso 1: Evolución de la úlcera con terapia celular



Caso 2

Paciente masculino de 24 años de edad, con paraplejía secundaria a trauma raquímedular a nivel de T12. Presentó una úlcera por presión en estadio IV localizada en glúteo izquierdo. El área de la úlcera fue de 49 cm² con una profundidad de 8 cm cuyo fondo constituía el tejido óseo.

El paciente recibió 8 sesiones semanales de sembrado de Células Madre Somáticas

de médula ósea. A los días 10 y 18 se evidenció proceso de restauración de la úlcera que inició desde fuera hacia dentro y de fondo hacia la superficie (Figura N° 2). La regeneración del fondo de la úlcera se caracterizó por la presencia de pequeñas protuberancias cónicas. Seguidamente, al día 18, se observó tejido de características musculares. El recubrimiento total de la úlcera se observó al día 56 de la terapia celular. Finalmente, la re-epitelización de la piel precisó dos semanas adicionales.

Figura N° 2

Caso 2: Evolución de la úlcera por presión posterior a sembrado de Células Madre Somáticas



Caso 3

Paciente masculino de 35 años de edad, con paraplejía secundaria a trauma raquímedular y presencia de úlcera por presión en estadio IV, localizada en la región glútea derecha. La úlcera presentó una dimensión de 12 cm² con una profundidad de 5 cm, cuyo borde estaba constituido por tejido fibrótico.

El paciente recibió 8 sesiones semanales de sembrado de Células Madre Somáticas de médula ósea. El proceso de regeneración fue mínimo en la región fibrótica; consecuentemente se procedió al retiro del tejido fibrótico y la regeneración continuó su curso. La regeneración total de la úlcera finalizó el día 69 (Figura N° 3).

Figura N° 3

Caso 3: Evolución de la úlcera por presión posterior a sembrado de Células Madre Somáticas



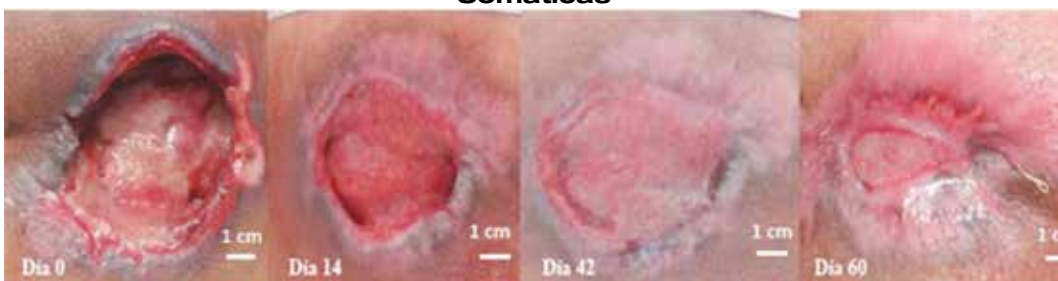
Caso 4

Paciente femenino de 30 años de edad con diagnóstico de paraplejía, con una úlcera por presión en estadio IV ubicada en la región sacra. Esta úlcera presentó un área de 49 cm² con una profundidad de 3 cm, cuyo fondo constituía el periostio del hueso sacro.

La úlcera se restauró completamente al día 60 de la terapia celular y fueron necesarias 6 sesiones de sembrado de Células Madre Somáticas de médula ósea. El proceso de recubrimiento de la úlcera siguió los mismos patrones de regeneración descritos en los anteriores casos (Figura N° 4).

Figura N° 4

Evolución de la úlcera por presión posterior a sembrado de Células Madre Somáticas



DISCUSIÓN

La terapia celular regenerativa emerge como una nueva especialidad, cuyo desarrollo está estrechamente unido al potencial regenerativo de las Células Madre capaces de diferenciarse en distintos tipos celulares. Las Células Madre Somáticas de médula ósea son pluripotentes porque contienen tanto Células Madre Hematopoyéticas como Células Madre Mesenquimales.

La regeneración de órganos y tejidos del cuerpo, no son un hecho insólito en la naturaleza; ya que existen muchos ejemplos de animales que son capaces de regenerar parte de su cuerpo; así por ejemplo, la salamandra, que posterior a la pérdida de una extremidad, es capaz de regenerarla completamente a partir del muñón. Inclusive, el hígado humano puede regenerarse y alcanzar su tamaño original a partir de un pequeño segmento del mismo.

Las Células Madre Somáticas pueden sembrarse en el órgano dañado, con o sin manipulaciones genéticas, y son capaces de diferenciarse a células circundantes. Actualmente, la terapia celular se emplea exitosamente en el

tratamiento de leucemias y lesiones articulares.

El presente estudio reporta una modalidad de terapia celular en úlceras por presión de tamaño inusual para el ejercicio clínico. Los pacientes con paraplejia en Bolivia carecen de normativas que protejan su salud, motivo por el que ellos están expuestos a mayores riesgos para la formación de úlceras de grandes dimensiones. El empleo de Célula Madre Somáticas de médula ósea en estas úlceras posibilitó la regeneración de los tejidos dañados tales como tejido adiposo, muscular y conjuntivo; además, de la revascularización de los mismos. La regeneración inició desde el borde externo hacia el centro y del fondo hacia la superficie. Se considera que, las Células Madre Mesenquimales, presentes en mínima cantidad en la médula ósea, fueron artífices para la regeneración de los tejidos faltantes en las úlceras. Por tanto, estos resultados permitirán iniciar intervenciones en grupos mayores de pacientes con úlceras crónicas y otras patologías de importancia regional.

REFERENCIAS

1. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multiorgan, multilineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105:369-77.
2. Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med* 2001;7:393-5.
3. Akita et al. Early Experiences with Stem Cells in Treating Chronic Wounds. *Clin Plastic Surg.* 2012; 39: 281-292.
4. Pittenger MF, McKay SC, Beck RK, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999;284:143-7.
5. Diegelmann RF, Evans 5. MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004;9:283-9.
6. Garber SL, Rintala DH. Pressure ulcers in veterans with spinal cord injury: a retrospective study. *J Rehabil Res Dev* 2003;40(5):433-41.
7. Pancorbo-Hidalgo, Pedro L. et al. Epidemiología de las úlceras por presión en España en 2013: 4.º Estudio Nacional de Prevalencia. *Gerokomos.* 2014; 25 (4): 162-170
8. Rammal et al. Stem Cells: A Promising Source for Vascular Regenerative Medicine. *Stem Cells and Development.* 2014; 23 (24): 2931-2949.

9. Atsushi Asakura. *Skeletal Muscle-derived Hematopoietic Stem Cells: Muscular Dystrophy Therapy by Bone Marrow Transplantation*. *J Stem Cell Res Ther*. 2012 Nov; Suppl 11: 005.
10. Lataillade JJ, Doucet C, Bey E, et al. *New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy*. *Regen Med* 2007;2:785-94.
11. Leblond A-L, O'Sullivan J, Caplice N. *Bone marrow mononuclear stem cells: potential in the treatment of myocardial infarction*. *Stem Cells Cloning Adv Appl* 2009;2:11-9.
12. *European Pressure Ulcer Advisory Panel and National Pressure Ulcer Advisory Panel. Treatment of pressure ulcers: Quick Reference Guide*. Washington DC: National Pressure Ulcer Advisory Panel; 2009. Available at: http://www.epuap.org/guidelines/Final_Quick_Treatment.pdf (accessed 23 September 2011)