

Tratamiento de úlceras vasculares crónicas con equivalentes cutáneos obtenidos mediante ingeniería tisular

L. Cambor-Santervás^a, A. Meana-Infiesta^b, J.M. Llanea-Coto^a,
F. Vaquero-Lorenzo^a, S. Gómez-Llames^b, D. López-García^a,
H. Cubillas-Martín^a, N. Alonso^a, M.J. Ramos-Gallo^a,
J.A. Carreño-Morrondo^a, M.A. Menéndez-Herrero^a,
J. Álvarez-Fernández^a, J. Rodríguez-Olay^a, J.M. Gutiérrez-Julián^a

TREATMENT OF CHRONIC VASCULAR ULCERS WITH SKIN EQUIVALENTS OBTAINED BY TISSUE ENGINEERING

Summary. Aims. To assess the effectiveness of a skin equivalent designed in a tissue bank in the treatment of chronic vascular ulcers. Patients and methods. Between September 1999 and December 2001, 25 patients with vascular ulcers that progressed in a torpid fashion (>4 months) were admitted to hospital and administered standard therapy, following which sluggish healing processes were observed. Nine venous, two arterial, seven hypertensive and seven mixed ulcers (the latter with a phlebostatic and arterial component) were found. After ruling out the possibility of the ulcer being affected by clinical and bacteriological infections, the grafts were placed once a week until healing had been achieved or the treatment was suspended due to lack of response. Weekly digital photographic monitoring was carried out to measure the extension of the lesions. From the second graft onwards, patients were treated in the outpatients department. Average follow-up time was 18 months (interval: 6-30 months). Values measured included the absence of rejection, healing rate, the time required to reduce the extension to 50 and 75%, and recurrence of ulcers. Results. No signs of rejection were detected. Overall healing rate was 80% (20/25); in hypertensive and mixed cases, the rate was 100% (14/14). Average closing time: 5.3 weeks (interval: 3-12 weeks). Average number of grafts used: 5.8 (interval: 3-13 grafts). Recurrence of ulcers was 25% (four venous and one hypertensive). Of the five ulcers that did not heal (four venous and one arterial), none of them got worse; there was no response in three cases and two of them showed a reduction of the extension that reached 85%. Conclusions. Skin equivalents could be a good alternative in the treatment of chronic vascular ulcers. [ANGIOLOGÍA 2003; 55: 21-33]

Key words. Cell culture. Chronic vascular ulcers. Cultured keratinocytes. Skin equivalents. Skin grafts. Tissue engineering.

^a Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital General de Asturias.
^b

Centro Comunitario de Transfusión del Principado de Asturias. Oviedo, Asturias, España.

Correspondencia:

Dr. Lino Antonio Cambor Santervás. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital General de Asturias. Julián Clavería, s/n. E-33006 Oviedo (Asturias). E-mail: lcambor@hcas.sespa.es

Agradecimientos. A Ángel Nistal, del centro de procesamiento de imágenes del Hospital Central de Asturias, por la elaboración del programa que permitió el procesamiento de las imágenes fotográficas.

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo de Investigación Sanitario FIS 99/1001.

© 2003, ANGIOLOGÍA

Introducción

La ulceración de las extremidades inferiores representa una patología con una

alta incidencia y prevalencia, que afecta al 1-3% de la población en los países desarrollados; la etiología vascular es la causa de las mismas en un 75-90% de los

casos [1,2]. La cronicidad y la recidiva son dos de las características clinicoevolutivas más relevantes; producen una disminución importante en la calidad de vida de la persona que la padece, un problema complejo de resolver para los equipos médicos y de enfermería, a la vez que un importante motivo de preocupación por el elevado coste sociosanitario [3].

A pesar de un tratamiento etiológico correcto y la gran variedad de apósitos disponibles en la actualidad, el porcentaje y la velocidad de cicatrización siguen siendo bajos.

Se precisan, por tanto, tratamientos más eficaces en el manejo de estos enfermos que consigan una tasa de cicatrización más alta y rápida de las lesiones, particularmente para aquellas que, por su duración y tamaño, son más difíciles de tratar. Recientes avances en el conocimiento de la fisiopatología de las úlceras crónicas, así como en las técnicas de cultivo celular, han permitido durante la última década el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas que pueden suponer un avance significativo. Entre éstas destaca la utilización de piel obtenida mediante ingeniería tisular. Con este tipo de técnicas pueden generarse grandes superficies de piel a partir de pequeñas biopsias cutáneas. Las células obtenidas a partir de estas muestras se multiplican mediante cultivo celular.

El empleo de queratinocitos cultivados en el tratamiento de úlceras vasculares crónicas se describió por primera vez en 1986 [4,5] y desde entonces varios estudios clínicos han demostrado su eficacia [6,7]. El uso de queratinocitos autólogos en pacientes de edad avanzada (la mayoría de nuestros enfermos) tiene el inconveniente de que estos queratinocitos poseen un potencial de crecimiento *-in vitro* y una

vez trasplantados– muy bajo, y necesitan al menos 3 o 4 semanas de cultivo celular para obtener una lámina trasplantable, por lo que se admite su uso en forma de aloinjertos en estos pacientes. Además, el alto coste económico, su gran fragilidad y las dificultades de transporte han limitado su uso. Actualmente, se tiende a cultivar los queratinocitos sobre superficies que imiten el lecho dérmico, formando así los llamados ‘equivalentes cutáneos’ [8,9], que básicamente consisten en una estructura bicapa de piel viva que contiene una dermis formada por proteínas de la matriz extracelular y fibroblastos humanos vivos, sobre la cual se cultivan los queratinocitos para formar el recubrimiento epitelial. El resultado final es una lámina que, imitando las características morfológicas y biológicas de la piel, intentan estimular los procesos de reparación tisular cutánea. El componente celular (fibroblastos y queratinocitos) se obtiene de una pequeña biopsia cutánea del propio enfermo en el caso de los autoinjertos, o bien de un fragmento de piel obtenido generalmente del prepucio de recién nacidos o de donantes jóvenes de órganos en el caso de los aloinjertos, tras un *screening* exhaustivo que descarte presencia de agentes infecciosos (VIH, VHC, VHB, etc.). La matriz extracelular se obtiene a partir de colágeno bovino, geles de fibrina o suero humano. Los equivalentes cutáneos son mucho más manejables para su uso en la clínica que los cultivos aislados de queratinocitos y su utilidad en el tratamiento de las úlceras crónicas se ha demostrado recientemente [10,11]. Aunque no existe el equivalente cutáneo ideal, éste debe cumplir unas características básicas, como son:

- Adherirse rápidamente a la herida.
- Proporcionar una barrera eficaz contra los microorganismos y la pérdida de líquidos.
- Ser resistentes a las presiones mecánicas, proporcionando una estabilidad a largo plazo con una cicatriz y contracción mínimas.
- Ser fáciles de esterilizar.
- Ser de manejo sencillo y fáciles de transportar.
- Ser inocuos.
- Poseer una relación coste-eficacia aceptable.

En la actualidad existe únicamente un equivalente cutáneo bicapa aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) estadounidense para su uso en las úlceras por estasis venoso y del pie diabético (Apligraf[®], Organogenesis Inc., Canton, MA; Novartis Pharmaceuticals, East Hanover, NJ). Se ha comercializado recientemente en España, aunque su elevado coste presumiblemente limitará su uso (1.000 dólares cada lámina de 50 cm²). El componente celular del Apligraf procede de la piel de prepucio de recién nacidos y la matriz extracelular está formada por colágeno bovino tipo I.

El Banco de Tejidos del Centro Comunitario de Transfusión (CCT) del Principado de Asturias trabaja desde 1994 en el desarrollo de equivalentes cutáneos con las características anteriormente descritas; fruto de este trabajo ha sido la consecución de un prototipo propio de piel artificial basado en el empleo de plasma y fibroblastos humanos vivos como base de la dermis artificial, sobre la cual se hacen crecer los queratinocitos para obtener la

cubierta epidérmica [12,13]. Los elementos celulares proceden de una biopsia cutánea de donante joven de órganos, y el plasma de donantes, de sangre del CCT. Los estudios preliminares efectuados sobre este prototipo cutáneo demuestran que es capaz de prender e integrarse desarrollando todas las capas epidérmicas cuando se trasplanta al ratón desnudo. Este prototipo presenta, como ventaja principal sobre otros derivados cutáneos existentes, la gran capacidad de crecimiento del epitelio sobre el lecho dérmico, además de permitir, por primera vez, la posibilidad de desarrollar una piel artificial en la que todos los componentes de origen biológico que lo forman (queratinocitos, fibroblastos y matriz dérmica extracelular) procedan del propio paciente. De esta forma se minimiza el riesgo de contagio de enfermedades transmisibles, aumenta la capacidad de integración en el lecho ulceroso y se repara directamente la úlcera.

El objetivo de este trabajo es determinar la efectividad de un equivalente cutáneo homólogo (aloinjerto) desarrollado en el Banco de Tejidos del CCT en el tratamiento de úlceras vasculares de evolución tórpida. Se valora la ausencia de rechazo, la tasa de cicatrización completa de la lesión, el tiempo de cicatrización, la reducción del área de la lesión al 50 y 75%, y la recidiva ulcerosa.

Pacientes y métodos

Diseño del estudio y selección de pacientes

Se trata de un estudio clínico en fase II (aprobado por el comité ético de nuestra

institución sanitaria), realizado entre septiembre de 1999 y diciembre de 2001 en el Servicio de Angiología y Cirugía Vascular II del Hospital Central de Asturias, en colaboración con el Banco de Tejidos del CCT del Principado de Asturias. Se incluyó a 25 pacientes consecutivos que cumplían los siguientes criterios:

- Presentar úlceras de etiología vascular de más de cuatro meses de evolución.
- Fracaso en el proceso de cicatrización tras tratamiento ambulatorio.
- Una vez hospitalizados y tras cuatro semanas de tratamiento estándar, se objetivaba un estancamiento en la cicatrización (disminución del área inicial de la lesión <10%).
- Ausencia clínica y bacteriológica de infección bacteriana.
- Formalizar el consentimiento informado por parte del enfermo.

Para la clasificación de las úlceras se han tenido en cuenta los antecedentes patológicos, el aspecto macroscópico de la úlcera, la exploración arterial básica –incluyendo palpación de pulsos periféricos, cálculo de ITB, curvas Doppler y arteriografía cuando se iba a precisar procedimiento revascularizador–, una exploración venosa para detección de signos cutáneos de hipertensión venosa (edema, dermatitis ocre, lipodermatosclerosis, atrofia blanca, etc.), la presencia de varicosidades y la realización de un eco-Doppler venoso para la detección de reflujo en el sistema venoso superficial o profundo. Para el diagnóstico de úlceras hipertensivas, el criterio que se siguió fue la presencia de una úlcera de características y localización

típicas (tercio medio de la cara externa de la pierna, necrosis importante de bordes, lecho muy doloroso y biopsia negativa para vasculitis) en pacientes con hipertensión arterial mal controlada y pulsos distales positivos. Se consideraron úlceras mixtas aquellas que presentaban componente arterial y venoso concomitante.

El tratamiento estándar en nuestro caso consistió en:

- Tratamiento etiológico correcto cuando fue posible: eliminación del reflujo en el sistema venoso superficial y perforantes insuficientes, compresión elástica y reposo adecuados, control de tensión arterial, y revascularización arterial según que la etiología fuera venosa, hipertensiva o arterial, respectivamente.
- Control de la infección bacteriana.
- Desbridamiento mecánico o enzimático del lecho ulceroso.
- Mantenimiento del tejido de granulación y facilitación de la epitelización mediante aplicación tópica de pomadas o apósitos oclusivos.

Una vez incluido el paciente en el estudio se cubre un protocolo en el que se reflejan los datos de filiación, factores de riesgo y antecedentes patológicos, medicación, exploración vascular, analítica básica y datos referentes a la úlcera, como tiempo de evolución, tratamientos previos, etiología, aspecto del lecho y bordes, resultado de los cultivos, fecha de colocación de los injertos, área inicial de la úlcera y evolución de la misma, con inclusión de fotografías digitales semanales.

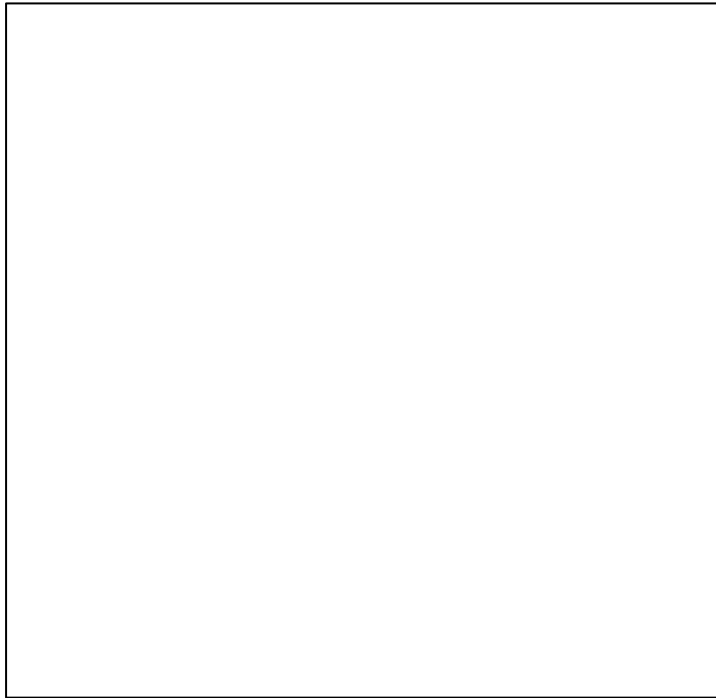


Figura 1. Estrategia de tratamiento de las úlceras cutáneas crónicas con aloinjertos cultivados. La capacidad de generar piel artificial es tan grande que se puede conseguir una superficie de piel cultivada de 5.000-7.000 veces el tamaño original de la biopsia.

Tabla I. Características de los pacientes incluidos en el estudio.

	N.º pacientes
Insuficiencia venosa crónica	16
Profunda	11
Superficial	5
Hipertensión arterial	15
Obesidad	10
Diabetes	9
Sedentarismo	9
Cardiopatía isquémica	7
Insuficiencia renal crónica	3
Arteriopatía periférica MMII	5
Corticoterapia	4

La edad media fue de 71 años (intervalo: 40-87): 18 pacientes eran mujeres (72%) y 7 eran varones (38%). Las características de los pacientes en el momento de su inclusión se reflejan en la tabla I. El período de seguimiento medio fue de 18 meses (intervalo: 6-30 meses). El tiempo medio de evolución de las lesiones fue de 8 meses (intervalo: 3-24 meses). El área media de las úlceras al inicio del tratamiento fue de 21,13 cm² (intervalo: 4,5 -100 cm²).

La clasificación etiológica de las úlceras mostró nueve úlceras de origen venoso (36%) –siete por insuficiencia originada en el sistema venoso profundo (postrombótica) y dos por insuficiencia originada en el sistema venoso superficial, con cirugía de varices ya realizada pero dermatitis de éstasis muy avanzada–, dos de origen

arterial (8%) –una aterosclerosis obliterante y una por tromboangiitis obliterante, ambas sin posibilidades de revascularización e ITB de 0,40 y 0,35, respectivamente–, siete úlceras de origen hipertensivo (28%) y siete mixtas (28%) –cuatro de predominio venoso (0,9>ITB>0,7) y tres de predominio arterial (0,7>ITB>0,5)–.

Elaboración del equivalente cutáneo

Una vez incluido el enfermo en el estudio, nos ponemos en contacto con el banco de tejidos para la elaboración del equivalente cutáneo. De modo resumido, éste se obtiene de la forma indicada en la figura 1.

El componente celular de nuestro modelo procede de pequeñas biopsias cutáneas (10-12 cm²) de donantes de órganos y tejidos de nuestro Banco de Tejidos. Las



Figura 2. Aspecto final del equivalente cutáneo. Obsérvese el soporte mallado sobre el cual se coloca el injerto para facilitar su transporte y colocación.



Figura 3. Colocación del equivalente cutáneo directamente sobre la úlcera.

células obtenidas se cultivan en diferentes condiciones (medios de cultivo, factores de crecimiento, etc.), lo que permite obtener, a partir de una misma biopsia, un gran número de fibroblastos y queratinocitos.

La matriz dérmica se basa en el empleo de plasma humano. El plasma se obtiene mediante venopunción o aféresis a partir de donantes altruistas de sangre. Tras la separación de los componentes formes de la sangre, el plasma se mantiene congelado hasta su uso.

Para la producción de la dermis artificial, el plasma se mezcla con los fibroblastos cultivados y se coagula mediante la adición de sales de calcio. La mezcla se introduce en un frasco de cultivo y se deja a 37 °C hasta que se solidifica; entonces se recubre de medio de cultivo y sobre su superficie se siembran los queratinocitos. El gel de plasma permite que las células sembradas (tanto fibroblastos como queratinocitos) mantengan un gran ritmo de crecimiento, incluso si se han sembrado a muy baja concentración. En 10-12 días de cultivo, el gel presenta una capa de epitelio confluyente en su superficie y gran número de fibroblastos en su interior. En ese momento, la lámina se extrae del frasco mediante

la fijación a un tul no graso estéril y está lista para trasplantarse al paciente (Fig. 2).

Protocolo de trabajo

Una vez seleccionado el paciente de acuerdo con los criterios expuestos con anterioridad, se procede a la colocación del injerto directamente sobre la lesión (Fig. 3). Posteriormente, el equivalente cutáneo se cubre con un apósito no adherente (p. ej., Linitul[®]) y se coloca un vendaje de gasa para inmovilizarlo y protegerlo; en el caso de úlceras venosas, se completa además con la colocación de un vendaje elástico compresivo hasta la rodilla. Los injertos se colocaron una vez a la semana y a los cuatro días se realizó una cura (sin retirar el injerto) que permitía detectar la presencia de signos de rechazo o de infección, así como eliminar el exceso de exudado. Antes de la colocación de cada nuevo injerto, se realiza un control fotográfico digital (cámara Sony Digital Mavica MVC-FD83) con el objetivo de documentar el proceso de cicatrización y medir posteriormente la reducción del área de cada lesión. El número de injertos colocados venía dado por la evolución de la úlcera, de tal forma que, si después de 4-5 injertos no se obser-

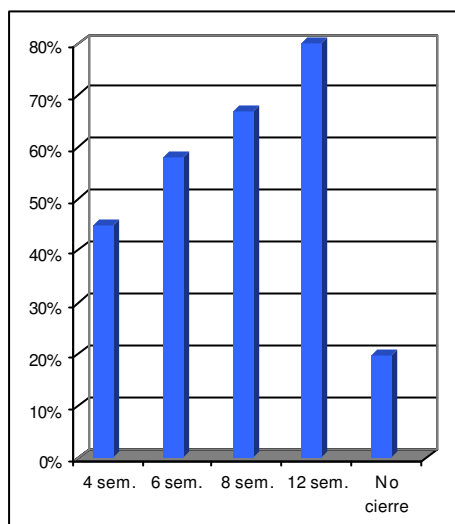


Figura 4. Tasas de cicatrización global por semanas de tratamiento.

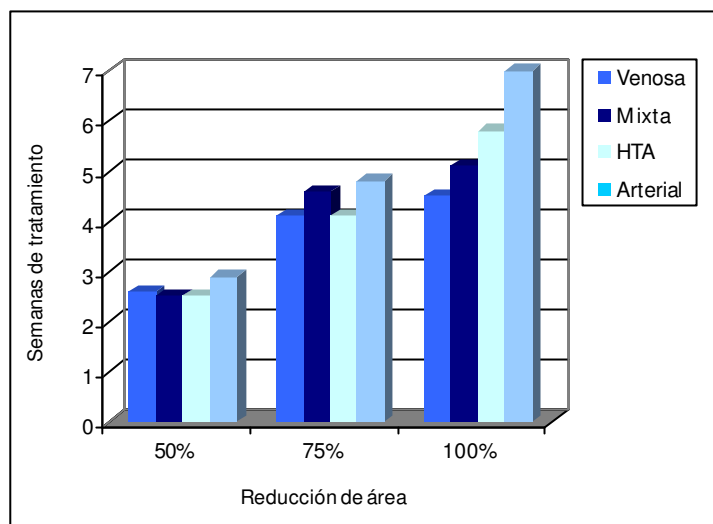


Figura 5. Tiempo de reducción del área al 50, 75 y 100% según el tipo de úlcera (en semanas). HTA: hipertensiva.

vaba respuesta o cuando el área residual de la úlcera era ya muy pequeño (<5-10% del área inicial), se suspendía el tratamiento. En caso de no objetivarse signos de rechazo, infección o empeoramiento de la úlcera, el tratamiento pasaba a hacerse ambulatoriamente a partir del segundo injerto, siguiendo la misma pauta.

Después de la cicatrización de las lesiones continuaron las revisiones del paciente cada tres meses en nuestra policlínica hasta la fecha de conclusión del estudio.

Para medir el área de las úlceras se utilizó un equipo Leica Q-550 Quantimet (*software* Leica-Qwi) disponible en el centro de procesamiento de imágenes de nuestro hospital, que permite la cuantificación de parámetros morfométricos y densitométricos de la imagen, lo cual posibilita el cálculo del porcentaje de reducción de las lesiones.

Se valoró la ausencia de rechazo, la tasa de cicatrización completa, el tiempo de cicatrización, la reducción de área ulcerosa al 50 y 75%, y la recidiva ulcerosa.

Para el análisis estadístico se ha utilizado el programa SPSS para Windows 98, que comprende una prueba de chi al cuadrado (con prueba exacta de Fisher) para la comparación de los porcentajes de cicatrización de los distintos tipos de úlceras.

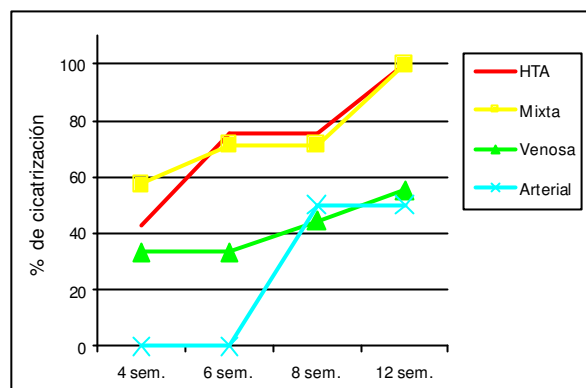
Resultados

No se observó ningún signo de rechazo en el grupo de pacientes tratados con el equivalente cutáneo. Tampoco se detectó empeoramiento (aumento del área) en ninguna de las úlceras tratadas.

La tasa de cicatrización global fue del 80% (20/25) a las 12 semanas de tratamiento. A las 4, 6 y 8 semanas, el 45, 58 y 67%, respectivamente, de las úlceras estaban cerradas (Fig. 4). La reducción del área al 50 y 75% se consiguió a las 2,5 y 4,5 semanas de tratamiento, respectivamente, sin observarse diferencias significativas entre los distintos tipos de úlceras (Fig. 5). El tiempo medio de cicatrización

Tabla II. Tasa y tiempo de cicatrización según clasificación etiológica de las úlceras.

	Sin cicatrizar	Cicatrizadas	Tiempo medio de cicatrización
	5 (20%)	20 (80%)	5,3 semanas
Venosa	4	5 (55%)	4,5 semanas
Hipertensiva	0	7 (100%)	5,8 semanas
Mixta	0	7 (100%)	5,1 semanas
Arterial	1	1 (50%)	7 semanas

**Figura 6.** Tasa de cicatrización y semanas de tratamiento según la etiología de las úlceras. HTA: hipertensiva.

fue de 5,3 semanas (intervalo: 3-12 semanas). El número medio de injertos utilizado fue de 5,8 (intervalo: 3-13 injertos).

Si analizamos los resultados según la etiología de las lesiones observamos que los mejores resultados se obtuvieron en las úlceras hipertensivas y mixtas, con un 100% de cicatrización, frente al 55% de las úlceras venosas y el 50% de las arteriales, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). El tiempo de cierre para las úlceras hipertensivas y mixtas fue de 5,1 y 5,8 semanas, respectivamente, aunque el tiempo más rápido de cicatrización fue para las venosas, con un promedio de 4,5 semanas (Tabla II, Fig. 5).

El porcentaje de cicatrización por semanas para cada tipo de úlcera se detalla en la figura 6.

De las cinco úlceras en las que no se consiguió la cicatrización, cuatro eran posttrombóticas y una por tromboangéitico (ITB= 0,35), con un tiempo medio de evolución de 19,8 meses y un área inicial media de 50 cm²; en dos se produjo una mejoría muy importante (reducción del área >85%) y en el resto no se produjo

respuesta y permanecieron abiertas al finalizar el período de seguimiento.

Después del período de seguimiento, cinco pacientes presentaron una recidiva ulcerosa (cuatro venosas y una hipertensiva), con un tiempo medio de aparición de la úlcera de 12 meses.

En las úlceras que presentaban un fondo con tejido de granulación en buen estado y escasa fibrina en el momento de injertarse, observamos una rápida disminución del tamaño a partir de la colocación del segundo injerto. Sin embargo, en aquellas úlceras de larga evolución, con abundante fibrina o lecho atrófico, sólo observamos una mejoría del tejido de granulación y disminución del área de la úlcera tras cuatro o más injertos, necesitando por tanto mayor número de injertos para su cicatrización completa.

Tuvimos únicamente dos casos de infección durante el tratamiento ambulatorio (ambas úlceras de origen posflebítico): uno atribuible a contaminación del injerto, y uno sin relación con el mismo. Se resolvieron con antibioterapia específica por vía oral y no obligaron a suspender la colocación de injertos (sí obligaron

a la sustitución del lote en el primer caso). El cierre se consiguió sin aumento significativo del tiempo de cicatrización en el primer caso; el segundo pertenece a una de las cinco úlceras del estudio que no cicatrizaron.

El 85% de los pacientes (17/20) que referían importante dolor en el lecho de la lesión al inicio del tratamiento, experimentaron un rápido y marcado alivio de los síntomas.

El mecanismo de cierre en la gran mayoría de las úlceras fue la contracción de los bordes de la herida (cierre centrípeto). En un número pequeño de pacientes (20%) se observó, además, la integración más o menos temporal del injerto formando islotes de tejido epitelizado dentro del lecho ulceroso.

Teniendo en cuenta que el coste final de cada equivalente cutáneo elaborado en el CCT es de 70€, el gasto medio por paciente fue de 406€.

Discusión

Aunque el objetivo final de la mayoría de los procedimientos de revascularización realizados en extremidades isquémicas es la cicatrización de las lesiones tróficas, y desde que Unna, dermatólogo del siglo XIX, introdujera el vendaje compresivo impregnado de óxido de zinc en el tratamiento de las úlceras venosas, pocos cambios relevantes se han producido en las últimas dos décadas en el manejo de las úlceras cutáneas presentes en los pacientes vasculares.

El uso de autoinjertos en malla clásicos supone una alternativa de tratamien-

to, pero tiene importantes limitaciones. Precisan la administración de anestesia general o regional en pacientes de edad avanzada, con importantes riesgos cardiovascular. La zona cutánea donante puede originar problemas, ya que se registran tasas de infección nada despreciables del 3%, lo que puede llegar a transformarse en una nueva herida quirúrgica. Además, se añade el costo derivado de una intervención quirúrgica y una estancia postoperatoria mínima de 5-7 días.

Este estudio prospectivo es, en nuestro conocimiento, el primero realizado en España que analiza la eficacia de un injerto cutáneo artificial homólogo en el tratamiento de úlceras vasculares crónicas.

Dentro del grupo de pacientes incluidos en el estudio hay que resaltar el alto porcentaje de enfermos diabéticos, edad avanzada, presencia de insuficiencia renal crónica e incluso con tratamiento corticoide, factores que aunque influyen negativamente en el proceso de cicatrización de las lesiones, pensamos que no por ello debe excluirse a tales pacientes, ya que este subgrupo de enfermos representa un porcentaje importante de pacientes ingresados en una Unidad de Cirugía Vascular.

La mayoría de las úlceras no respondieron de forma clara al primer injerto; sin embargo, tras dos o más sesiones de trasplante, las lesiones mostraron una marcada mejoría. Es importante, por lo tanto, colocar el número suficiente de injertos, especialmente en úlceras grandes (>50 cm²), de larga evolución y aquellas que presentan un lecho con abundante fibrina o muy atrófico.

Aunque los mecanismos de acción de los equivalentes cutáneos todavía no se han



Figura 7. a) Úlcera hipertensiva de 29,35 cm² lista para injertar. b) Úlcera el 14.º día, con 9 cm²; obsérvese el cierre desde los bordes. c) Úlcera cicatrizada a las cuatro semanas.

aclarado por completo y no se pueden descartar otros, actualmente se manejan tres:

- Función de barrera frente a entrada de gérmenes y pérdida de líquidos.
- ‘Prendimiento’ o integración de forma efectiva en el lecho de la úlcera a través de la estimulación capilar e interacción con las células huésped, dando lugar a la formación de islotes de epitelización de tamaño variable en el centro de la úlcera.
- Secreción de múltiples factores de crecimiento celular (en un primer momento, por el equivalente cutáneo intacto, y después, por las células remanentes y las propias células huésped), que van a acelerar el proceso de cicatrización promoviendo la angiogénesis, regulando el equilibrio entre la síntesis y la degradación de la matriz extracelular y, sobre todo, estimulando la proliferación y migración de los queratinocitos y fibroblastos de los bordes de la herida.

Estudios realizados *in vitro* mediante técnicas de transcriptasa inversa demuestran que estos derivados cutáneos son capaces de sintetizar citocinas con un patrón similar a la piel humana, tales como el factor de

crecimiento endotelial (ECGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento epidérmico recombinante humano (h-EGF), el factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF), las interleucinas (IL-1, IL-6, IL-8), etc. [14].

La formación de una cubierta cutánea estable, es decir, el ‘prendimiento’ del injerto sin generar problemas de rechazo, se produce gracias a que tanto los queratinocitos como los fibroblastos no son células presentadoras de antígenos y no son capaces de activar los linfocitos T del huésped al no expresar los antígenos de histocompatibilidad HLA clase II ni otras moléculas de adhesión (ICAM). No obstante, por estudios de ADN celular realizados en las úlceras cicatrizadas [15] hoy sabemos que la permanencia o integración del injerto es sólo temporal porque, con el tiempo, las células del injerto acaban siendo sustituidas por las células huésped.

El mecanismo de cicatrización observado mayoritariamente en nuestros enfermos (>80%) fue a través del cierre desde los bordes de la herida, hecho observado también por la mayoría de los autores (Fig. 7) [6,10,15].

Hemos tenido dos casos de infección del lecho ulceroso durante el tratamiento (ambas posflebíticas), pero no hemos constatado que haya influido de forma negativa en los resultados porque, en un caso, la lesión cicatrizó sin aumentar de forma significativa el tiempo de cierre, y en el otro, correspondía a una úlcera de 20 meses de evolución, con un área inicial de 90 cm², que una vez tratada la infección no se modificó el curso de la misma, y la úlcera permaneció abierta al finalizar el estudio.

El porcentaje de cicatrización conseguido con nuestro equivalente cutáneo es superponible al recogido en los demás trabajos publicados tanto de forma global como para los distintos tipos de úlceras (teniendo en cuenta que utilizamos un derivado cutáneo de fabricación propia frente a la patente estadounidense que emplean el resto de los estudios). Los peores resultados obtenidos en las úlceras venosas también son similares a los del único estudio multicéntrico existente en la actualidad, que engloba a 279 pacientes con úlceras venosas; esta diferencia se achaca al distinto sustrato fisiopatológico de las úlceras venosas frente al resto de lesiones [6].

El coste del tratamiento puede ser una de las limitaciones para el uso de este tipo de derivados cutáneos. No obstante, si tenemos en cuenta que hemos conse-

guido abaratar sustancialmente el precio final del equivalente cutáneo elaborado por el CCT hasta llegar a los 70€—frente a los 1.000€ del Apligraf por cada lámina de 50 cm² (teniendo en cuenta que nos referimos al precio de laboratorio, incluido fungibles y gasto de personal, no al precio final de comercialización)—, que el tratamiento se puede realizar de forma ambulatoria y que, además, se consigue acelerar la cicatrización, el ahorro en costes de personal y material sanitario puede justificar su uso.

Estos resultados sugieren, finalmente, que el equivalente cutáneo desarrollado en el CCT del Principado de Asturias puede constituir una alternativa en el tratamiento de úlceras vasculares crónicas, particularmente para aquellas de origen hipertensivo y mixtas que, por su tiempo de evolución, tamaño o atrofia del lecho ulceroso, se prevean más difíciles de tratar.

No obstante, se necesita realizar estudios comparativos para valorar la relación coste-eficacia de esta modalidad de tratamiento, por lo que tenemos en marcha un estudio clínico en fase III que incluye la asignación de forma aleatoria de los pacientes al grupo de injertos cutáneos cultivados (en el cual incluiremos, a su vez, la utilización tanto de aloinjertos como de autoinjertos) o a un grupo control de úlceras tratadas con las medidas habituales.

Bibliografía

1. Cornwall JV, Dorec J, Lewis JD. Leg ulcers epidemiology and aetiology. *Br J Surg* 1986; 73: 693-6.
2. Baker SR, Stacey MC, Singh G. Etiology of chronic leg ulcers. *Eur J Vasc Surg* 1992; 6: 245-51.
3. Philips T, Stanton B, Proban A, Lew R. A study of the impact of legs ulcers on quality of life: financial, social and psychological implications. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31: 49-53.
4. Leigh IM, Purkis PE, Navsaria HA, Philips TJ. Culture grafted leg skin. *Clin Exp Dermatol* 1986; 11: 650-2.

5. Hefton JM, Caldwell D, Biozes DG, Balin AK, Carter DM. Graftin of skin ulcers with cultured autologous epidermal cells. J Am Acad Dermatol 1986; 14: 399-405.
6. Beele H, Naeyaert JM, Goeteyn M, De Mill M, Kint A. Repeated cultured epidermal allograft in the treatment of chronic leg ulcers of various origins. Dermatologica 1991; 183: 31-5.
7. Limat A, Mauri D, Hunziker T. Successful treatment of chronic leg ulcers with epidermal equivalents generated from cultured autologous outer root sheath cells. J Invest Dermatol 1996; 183: 128-35.
8. Hansbrough J, Boyce ST, Cooper ML, Foreman TJ. Burn wound closure with cultured autologous keratinocytes and fibroblasts attached to a collagen-glycosaminoglycan substrate. JAMA 1989; 262: 2125-30.
9. Maruruchi T, Maruguchi Y, Suzuki S, Matsuda K, Toda KI, Issiki N. A new skin equivalent: keratinocytes proliferated and differentiated on collagen sponge containing fibroblasts. Plast Reconstr Surg 1994; 93: 537-44.
10. Falanga V, Margolis D, Álvarez O, Auletta M, Maggicomo F, Altman M, et al. Rapid healing of venous ulcers and lack of clinical rejection with an allogenic cultures human skin equivalent. Arch Dermatol 1998; 134: 293-300.
11. Chang DW, Sánchez LA, Veith FJ, Wain RA, Okhi T, Suggs WD. Can a tissue-engineered skin graft improve healing of lower extremity foot wounds after revascularization? Ann Vasc Surg 2000; 14: 44-9.
12. Meana A, Iglesias J, Del Río M, Larcher F, Madrigal B, Fresno MF, et al. Large surface of cultured human epithelium obtained on a dermal matrix based on live fibroblast-containing fibrin gels. Burns 1998; 24: 621-30.
13. Jorcano JL, Larcher F, Meana A, Gómez S, Del Río M. Dermis artificial y método de obtención. Patente n.º P200100494.
14. Ansel J, Perry P, Brown J, Damm D, Phan T, Hart C, et al. Cytokine modulation of keratinocyte cytokines. J Inves Dermatol 1990; 94: S164-70.
15. Philips TJ, Kehinde O, Green H, Gilchrist BA. Treatment of skin ulcers with cultured epidermal allografts. J Am Acad Dermatol 1989; 21: 191-9.

TRATAMIENTO DE ÚLCERAS VASCULARES CRÓNICAS CON EQUIVALENTES CUTÁNEOS OBTENIDOS MEDIANTE INGENIERÍA TISULAR

Resumen. Objetivo. Valorar la efectividad de un equivalente cutáneo diseñado en un banco de tejidos, en el tratamiento de úlceras vasculares crónicas. Pacientes y métodos. Entre septiembre de 1999 y diciembre de 2001 se incluyó a 25 pacientes con úlceras vasculares de evolución tórpida (>4 meses) en quienes, tras ingreso hospitalario y tratamiento estándar, se objetivó un estancamiento en su cicatrización. Se constataron nueve úlceras venosas, dos arteriales, siete hipertensivas y siete mixtas (componente flebostático y arterial). Descartada la infección clínica y bacteriológica de la úlcera, los injertos se colocaron una vez a la semana hasta la cicatrización o suspensión del tratamiento por no respuesta. Se realizaron controles fotográficos digitales semanales para medir el área de las lesiones. A partir del segundo injerto, el tratamiento se realizó ambulatoriamente. El seguimiento medio fue de 18 meses (intervalo: 6-30 meses). Se valoró la ausencia de rechazo, la tasa

TRATAMENTO DE ÚLCERAS VASCULARES CRÓNICAS COM EQUIVALENTES CUTÁNEOS OBTIDOS POR ENGENHARIA TECIDUAL

Resumo. Objetivo. Avaliar a eficácia de um equivalente cutâneo desenhado num banco de tecidos, no tratamento de úlceras vasculares crónicas. Doentes e métodos. Entre Setembro de 1999 e Dezembro de 2001, foram incluídos 25 doentes com úlceras vasculares de evolução desfavorável (>4 meses) em quem, após internamento hospitalar e tratamento padrão, objectivou-se uma melhoria na sua cicatrização. Constatarem-se nove úlceras venosas, duas arteriais, sete hipertensivas e sete mistas (componente flebostático e arterial). Excluída a infecção clínica e bacteriológica da úlcera, os enxertos colocaram-se uma vez por semana até à cicatrização ou à suspensão do tratamento por falta de resposta. Realizaram-se controlos fotográficos digitais semanais para medir a área das lesões. A partir do segundo enxerto, o tratamento realizou-se em ambulatório. O seguimento médio foi de 18 meses (intervalo: 6-30 meses). Avaliou-se a ausência de retrocesso, o índice de cicatrização, o

de cicatrización, el tiempo de reducción del área al 50 y 75%, y la recidiva ulcerosa. Resultados. No se detectaron signos de rechazo. Tasa global de cicatrización del 80% (20/25); en hipertensivas y mixtas, tasa del 100% (14/14). Tiempo medio de cierre: 5,3 semanas (intervalo: 3-12 semanas). Número medio de injertos utilizados: 5,8 (intervalo: 3-13 injertos). La recidiva ulcerosa fue del 25% (cuatro venosas y una hipertensiva). De las cinco úlceras que no cicatrizaron (cuatro venosas y una arterial), ninguna empeoró: en tres no hubo respuesta y en dos se redujo el área más de un 85%. Conclusiones. Los equivalentes cutáneos podrían constituir una buena alternativa en el tratamiento de úlceras vasculares crónicas. [ANGIOLOGÍA 2003; 55: 21-33]

Palabras clave. Cultivos celulares. Equivalentes cutáneos. Ingeniería tisular. Injertos cutáneos. Queratinocitos cultivados. Úlceras vasculares crónicas.

tempo de redução da área em 50 e 75%, e a recidiva ulcerosa. Resultados. Não se detectaram sinais de retrocesso. O índice global de cicatrização foi de 80% (20/25); em hipertensivas e mistas, o índice foi de 100% (14/14). Tempo médio de encerramento: 5,3 semanas (intervalo: 3-12 semanas). Número médio de enxertos utilizados: 5,8 (intervalo: 3-13 enxertos). A recidiva ulcerosa foi de 25% (quatro venosas e uma hipertensiva). Das cinco úlceras que não cicatrizaron (quatro venosas e uma arterial), nenhuma piorou: em três não houve resposta e em duas foi reduzida a área em mais de 85%. Conclusões. Os equivalentes cutâneos poderiam constituir uma boa alternativa no tratamento de úlceras vasculares crónicas. [ANGIOLOGÍA 2003; 55: 21-33]

Palavras chave. Culturas celulares. Engenharia tecidual. Enxertos cutâneos. Equivalentes cutâneos. Queratinocitos cultivados. Úlceras vasculares crónicas.