

Tratamiento de úlceras venosas con factores de crecimiento derivados de plaquetas autólogas

Stella Prada de Castañeda
Mónica Salazar Soto
Armando Muñoz Calle
Leonor Alvarez Peláez

RESUMEN

S Se presenta un estudio clínico-experimental controlado, en 10 pacientes con úlceras venosas recalcitrantes, a quienes se les inició tratamiento convencional (medidas locales y uso de vendajes elásticos) y se les dividió aleatoriamente en dos grupos: uno de los grupos recibió factores de crecimiento derivados de sus propias plaquetas para aplicarse tópicamente durante 12 semanas en las lesiones y el otro un placebo. Al término de este tiempo los pacientes en el grupo placebo, que no presentaron reducción en el tamaño de sus lesiones, fueron trasladados al grupo de tratamiento con factores de crecimiento. Al final del estudio se observó una reducción estadísticamente significativa del área y del perímetro de las úlceras tratadas con los factores de crecimiento ($p = 0.0003$). Los pacientes fueron evaluados mensualmente durante tres meses postratamiento y al año, para detectar los efectos a largo plazo de los factores de crecimiento derivados de plaquetas (FCDP) sobre la cicatrización de las heridas.

Palabras clave: úlceras venosas, factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

INTRODUCCIÓN

Las úlceras crónicas de los miembros inferiores son causa de gran morbilidad en quienes las padecen, y pueden llevar a períodos prolongados de hospitalización e incapacidad laboral, con los consecuentes costos económicos, sociales y obviamente disminución en su calidad de vida.

Su causa más frecuente es la insuficiencia venosa crónica, y factores como la infección, isquemia tisular y la desnutrición contribuyen a perpetuarlas.¹

En el Hospital Universitario San Vicente de Paúl (HUSVP) de Medellín, las úlceras secundarias a insuficiencia venosa constituyeron, durante los últimos 20 años, una de las cinco primeras causas de consulta. En un estudio realizado en el HUSVP y el Instituto de Seguros Sociales de esta misma ciudad en 50 pacientes con úlceras venosas, se contabilizaron 2496 días laborales perdidos, 651 días de hospitalización y 557 consultas previas a la curación. Esto nos alerta sobre la magnitud del problema.²

El tratamiento tradicional de las úlceras venosas ha consistido en la alteración del medio ambiente local, para favorecer en forma pasiva la reparación tisular y evitar una pérdida mayor de tejido. Los antibióticos tópicos y orales,

Stella Prada de Castañeda, Profesora Dermatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

Mónica Salazar Soto, RIII Dermatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

Armando Muñoz Calle, RIII Dermatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

Leonor Alvarez Peláez, Especialista en Hematología y manejo de Banco de Sangre, Laboratorio de Hematología, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín.

Correspondencia: Stella Prada de Castañeda, Clínica del Prado, carrera 50ª #64-65, teléfono 2633137, Medellín, Colombia.

Tratamiento de úlceras venosas

los tópicos estimulantes de la granulación, los apósitos hidrocoloides y los vendajes elásticos compresivos son algunos de los métodos actualmente utilizados, con los cuales eventualmente se logra la cicatrización de las úlceras, proceso que puede tardar meses o años.

En 1986 el Dr. David R. Knighton, de la Universidad de Minnesota (EEUU), utilizó con éxito factores de crecimiento derivados de plaquetas autólogas (FCDP) para tratar 95 úlceras crónicas de diversas etiologías, en 45 pacientes, obteniendo la cicatrización en un tiempo promedio de 10.6 semanas.¹ Posteriormente, en 1990, su grupo repitió el estudio, esta vez controlado con placebo, obteniendo de nuevo excelentes resultados.³

En la actualidad, en Estados Unidos y Europa se dispone comercialmente de FCDP obtenidos por tecnología recombinante, con los cuales se ha demostrado éxito en la cicatrización de úlceras neuropáticas de pacientes diabéticos y úlceras por presión.⁴⁻⁶ Desafortunadamente sus costos no están al alcance de nuestros pacientes.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de los FCDP autólogos, aplicados en úlceras venosas de miembros inferiores, y compararlos con la carboximetilcelulosa de sodio utilizada como placebo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se escogieron 10 pacientes asistentes a la Consulta Externa de Dermatología del HUSVP, con diagnóstico de úlceras venosas de miembros inferiores resistentes a las modalidades terapéuticas convencionales. A todos se les realizó una historia clínica completa y se les ordenó estudio de triplex venoso, biopsia de la úlcera y los siguientes exámenes de laboratorio: hemograma completo, recuento plaquetario, glicemia, úrea, creatinina, albúmina, VDRL, HIV, AgSHB, pruebas para hepatitis C y enfermedad de Chagas.

Fueron excluidos pacientes diabéticos dependientes de insulina, con déficit en pulsos periféricos, anémicos o con grados severos de desnutrición. A todos los pacientes se les explicó el tratamiento y se obtuvo su consentimiento escrito, luego de lo cual se les dividió aleatoriamente en dos grupos de 5 pacientes cada uno.

OBTENCIÓN DE LOS FCDP

A los pacientes asignados al grupo problema se les realizaron 6 flebotomías de 450 cc cada una en el Banco de Sangre del HUSVP, con un intervalo de dos semanas entre ellas. La sangre así obtenida es centrifugada dos veces, usando centrífuga refrigerada para separar los glóbulos rojos y los blancos, y dejar, mediante la segunda centrifugación, un concentrado de 30 cc de plasma rico en plaquetas, que se centrifuga de nuevo a 3.600 rpm para obtener un concentrado plaquetario y descartar el plasma.

El concentrado plaquetario es sometido a diluciones en buffer de Hepes hasta obtener una FCDP de 10⁹ x ml; posteriormente se lava dos veces con buffer de Hepes y resuspendido en 2 ml de este buffer. Las plaquetas son expuestas por 15 minutos a trombina humana preparada en el laboratorio (1 ml disuelto en 4 ml de solución salina) para inducir la liberación de los FCDP de sus gránulos. Una nueva centrifugación a 3.600 rpm remueve las plaquetas consumidas en el proceso, y 7 ml del sobrenadante obtenido son añadidos a 1 g de gel de carboximetilcelulosa de sodio, utilizado como vehículo, y dividido en 15 alícuotas, una de las cuales se separa para cultivos microbiológico y micológico de control.

Los glóbulos rojos, no utilizados en el procedimiento descrito, son retransfundidos a cada paciente cada dos semanas.

PREPARACIÓN DEL PLACEBO

Se utilizó carboximetilcelulosa de sodio preparada en condiciones estériles en el laboratorio del hospital. Esta sustancia es básicamente acuosa, no produce efectos adversos y es parte fundamental de los apósitos hidrocoloides comerciales.

APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO

El tiempo de tratamiento se consideró como: T0 inicio del tratamiento, T50 seis semanas de tratamiento, T100 fin del tratamiento a las 12 semanas o antes si hay cicatrización.

A los pacientes del grupo problema se les entregaron 14 alícuotas cada dos semanas que contenían los

Tratamiento de úlceras venosas

factores de crecimiento diluidos en el vehículo de carboximetilcelulosa de sodio. A los del grupo placebo se les entregaron 14 alícuotas cada dos semanas con el mismo vehículo, pero en ausencia de los factores de crecimiento. Los pacientes recibieron las instrucciones de aplicar el producto cada 12 horas con un bajalenguas sobre la úlcera, previamente lavada con agua hervida, cubriéndola con gasa limpia.

Al terminar las doce semanas los pacientes del grupo placebo que no habían obtenido respuesta al tratamiento fueron trasladados al grupo problema, con el mismo protocolo de manejo por un período igual (12 semanas) o hasta el momento en que ocurra la cicatrización de las úlceras.

Controles

Antes de iniciar el tratamiento se tomaron fotografías a color a cada una de las lesiones, a una distancia estándar de 35 cm. Se dibujó el borde de la úlcera sobre una hoja de plástico transparente con un marcador indeleble, para posteriormente calcular su área y perímetro, mediante un programa computarizado (Archicad 4) y se anotaron las variables de profundidad, edema e infección secundaria, utilizando una escala de 0-4, según su intensidad. La variable profundidad fue calculada clínicamente. Estos parámetros fueron medidos cada dos semanas hasta el T100.

Cuidados generales

Los pacientes de ambos grupos utilizaron vendajes elásticos compresivos para disminuir el edema, recibieron antibióticos orales o tópicos cuando se consideró necesario, hidrocortisona tópica alrededor de la úlcera, si presentaban eczematización, y debridamiento de sus bordes si estaban hipertróficos.

Análisis de los resultados

El efecto del FCDP sobre el tejido de granulación se midió calculando los cambios de profundidad de la úlcera, mediante el Wilcoxon de grupos pareados, Programa Statxact, Cytel Corporation, USA. Para la media y desviación estándar del área de las úlceras se utilizó la prueba de Friedman de una cola. Los programas anteriores son aplicables para grupos pequeños de pacientes en estudio.

Resultados

El grupo total (placebo y control) estaba compuesto por 9 mujeres y 1 hombre, con un promedio de edad y tiempo de evolución de las úlceras de 65 y 15 años, respectivamente.

Dos pacientes del grupo placebo presentaron cierre de la úlcera a las seis semanas de tratamiento (T50). Ambas úlceras tenían un área <5 cm² al T0. (Figuras 1, 2 corresponden al paciente No. 2).

Tres pacientes del grupo placebo empeoraron o no se modificaron del T0 al final del tratamiento T100 (tanto en el área como en la profundidad de sus úlceras), por lo que pasaron al grupo de tratamiento con FCDP, con lo cual obtuvieron una reducción considerable del tamaño de las úlceras (Cuadros 1, 2).

Cuatro pacientes del grupo problema (tratados con FCDP desde el inicio) obtuvieron casi una cicatrización completa de sus úlceras al T100 (Cuadro 1). Un paciente de este grupo no presentó ninguna modificación apreciable en el tamaño o profundidad de su úlcera venosa al T100. (Figuras 3, 4 corresponden al paciente No. 3).

No.	PLACEBO			FCDP		
	T0 cm ²	T50 cm ²	T100 cm ²	T0 cm ²	T50 cm ²	T100 cm ²
1	132.25	193.08	207.98	46.56	45.58	40.14
2	4.46	0.13	0	29.32	20.97	11.46
3	4.89	0.26	0	32.58	14.69	4.25
4	101.54	83.49	96.93	89.50	24.78	3.82
5	28.46	26.99	26.19	6.58	4.41	2.67

	T0	T50	T100
1	235.97	158.84	155.12
2	90.88	63.62	77.28
3	20.10	10.45	6.81

Tratamiento de úlceras venosas



Figura 1. Paciente No. 2. Úlcera venosa. Grupo FCDP. T0 área de 29.32 cm².



Figura 3. Paciente No. 3. Úlcera venosa. Grupo FCDP. T0 área de 32.58 cm².



Figura 2. Paciente No. 2. Úlcera venosa. Grupo FCDP. T100 área de 11.46 cm².



Figura 4. Paciente No. 3. Úlcera venosa. Grupo FCDP. T100 área de 4.25 cm².

Tratamiento de úlceras venosas

Al aplicar la media y desviación estándar del área de las úlceras tratadas con placebo y FCDP, se observó que el placebo no tuvo efecto significativo sobre el área de las úlceras al comparar T50 con T100 ó T0 con T100. Prueba de Friedman de una cola $P=0.005$ (Cuadro 3).

Cuadro 3		
Media y desviación estándar del área de las úlceras tratadas con placebo y FCDP autólogas		
	PLACEBO (n = 5)	FCDP (n = 8)
T0	54.32 ± 58.75	45.06 ± 33.10
T50	60.79 ± 81.40	26.38 ± 21.06
T100	60.02 ± 88.62	20.92 ± 28.13
P. de Friedman de 1 cola	P = 0.005	P = 0.0003

La prueba de Friedman fue significativa al evaluar el efecto del FCDP sobre el área de las úlceras tanto al T50 como al T100. $P = 0.0003$. (Cuadro 3).

No hubo diferencias significativas entre el tamaño de las úlceras en ambos grupos de pacientes, prueba de Man Whitney no significativa. Tampoco hubo diferencias significativas entre los grupos al comparar las variables de edema o infección.

La respuesta del placebo y de los FCDP en la granulación (profundidad) demostró un efecto significativo del FCDP sobre la granulación medida por la profundidad de las úlceras. $P = 0.008$ (Cuadro 4).

Cuadro 4				
Efecto del placebo y de los FCDP autólogas sobre la granulación (profundidad)				
Mediana de profundidad	n	T0	T100	Wilcoxon grupos pareados
Placebo	5	4	4	$P > 0.05$
FCDP	8	4	2	$P = 0.008$

Seguimiento: se realizó mensualmente hasta el tercer mes postratamiento y un año después, para observar a largo plazo los resultados de los FCDP sobre la cicatrización.

Grupo placebo

De los dos pacientes que obtuvieron cicatrización con la carboximetilcelulosa en el T50, uno sufrió recidiva de su úlcera 3 meses después y fue manejada con apósitos hidrocoloides, obteniendo pronta cicatrización. La segunda paciente continúa sana un año después.

Grupo de FCDP

En cuatro de las pacientes originales del grupo problema, sus úlceras estaban en proceso de cicatrización total al terminar el estudio (12 semanas), tres lo consiguieron usando apósitos hidrocoloides en un tiempo promedio de tres meses y una recidivó, aumentando sus úlceras de tamaño como consecuencia de erisipelas a repetición; un año después de terminado el tratamiento aún permanece abierta su úlcera. Un paciente que no respondió a los FCDP continúa con su úlcera aumentando de tamaño, y nunca utilizó los soportes elásticos.

De los tres pacientes que fueron trasladados del grupo placebo al grupo problema, una continúa con su úlcera cicatrizada un año después de terminado el tratamiento, y dos pacientes abandonaron todo tipo de tratamiento por falta de motivación.

Discusión

Por todos es bien sabido que la respuesta al tratamiento de úlceras venosas es lenta, y que la evolución es mejor si los pacientes son vistos cada dos semanas que si se ven cada 2 meses, como es lo usual en nuestro medio. Se disminuye el edema y la hipertensión venosa con vendajes compresivos, si se trata el prurito, la xerosis y eczematización periférica, si se debridan los bordes hipertróficos, se administra tratamiento para la infección secundaria y se estimula la aparición del tejido de granulación de diversas formas. Aún así, existen úlceras venosas que desafían el autocuidado del paciente y hacen perder la motivación a los médicos.

Se escogieron 10 pacientes con úlceras recalcitrantes a todo tipo de terapia convencional, de largos años de

Tratamiento de úlceras venosas

evolución, para tratarlos con los FCDP autólogas, pues, después de leer los trabajos del Dr. Knighton, era factible aplicar su metodología en nuestro medio.^{1,3}

El efecto del suero bovino fetal sobre los cultivos celulares al parecer se debe principalmente a los productos derivados de las plaquetas.⁷ Ellas poseen dentro de sus gránulos factores angiogénicos, activadores de fibroblastos para la producción de colágeno, y de matriz extracelular que induce la aparición de tejido de granulación sobre el cual migrarán las células epidérmicas, estimuladas por factores de proliferación y migración epidérmica producidos por ellas, además de factores quimiotácticos para neutrófilos y macrófagos, los cuales, a su vez, producen más factores de crecimiento y ayudan a la limpieza de la herida al fagocitar microorganismos.^{8,9,10} Está estudiado y comprobado que en las heridas, al romperse los capilares y activarse la cascada de la coagulación, son las plaquetas las iniciadoras de la reparación a través de la liberación de estos factores de crecimiento.¹¹

En este trabajo, aunque con escaso número de pacientes, se demostró claramente el efecto benéfico de los factores de crecimiento sobre heridas de larga evolución, recalcitrantes a toda modalidad terapéutica disponible entre nosotros. Los pacientes del grupo problema (FCDP autólogas) tuvieron una disminución considerable del área de sus úlceras, comparando T0 con T50 y T100 ($p = 0.0003$). Los del grupo cruzado con úlceras de gran tamaño (pacientes trasladados del grupo placebo) también tuvieron disminución de su área de ulceración, lo cual nos induce a pensar que si el trabajo se hubiera prolongado unas semanas más, se habría logrado la cicatrización completa en todos los pacientes. Es importante anotar que en el grupo placebo las dos úlceras que cicatrizaron en T50 tenían $<5 \text{ cm}^2$ de área, que explicaría su respuesta acelerada. Cuando llegamos al T100 en el grupo problema y suspendimos la aplicación de FCDP (continuando con las medidas profilácticas convencionales), observamos un rápido aumento del tamaño de las úlceras en tres pacientes, que mejoraron con el uso de vendajes hidrocoloides en dos a tres meses.

No realizamos la caracterización de los FCDP autólogos por ser un método muy costoso y difícil para nuestra tecnología; queríamos, simplemente, en un grupo pequeño, observar el comportamiento de éstos y posteriormente estudiar un grupo mayor.

La metodología utilizada fue muy laboriosa; por dificultades tecnológicas debimos realizar flebotomías de 450 cc, que nos obligaba a reconstituir los glóbulos rojos extraídos a cada paciente para evitarles la anemia. En el trabajo original, el doctor Knighton realiza flebotomías de 60 cc, que simplifica el procedimiento y disminuye costos.^{1,3}

Comercialmente existe en forma recombinante el FCDP, obtenido al insertar el gen de la cadena BB al hongo *Sacharomyces cerevisiae* (Becaplermin). Los estudios en humanos son prometedores, especialmente en úlceras neuropáticas de pacientes diabéticos y en úlceras por presión.^{4,6}

Los FCDP deben considerarse como una terapia adicional a las que ya poseemos, que transforma un área de poco movimiento celular en un área de gran actividad metabólica, no sólo por la producción de colágeno y matriz extracelular, sino por la migración activa de varios tipos de células, las cuales, a su vez, son verdaderas fábricas de factores de crecimiento. Esta modalidad de manejo no reemplaza las otras medidas terapéuticas, las complementa y, como es lógico, no resuelve el problema hemodinámico de base.

AGRADECIMIENTOS

A: Dr Alberto Uribe C., Decano de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín. Centro de Investigaciones Médicas, Universidad de Antioquia (CIM), Medellín. Laboratorio Clínico, Hematológico y Banco de Sangre, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín. Doctores Amado Karduz y Alfonso González, por la preparación de la carboximetilcelulosa. Doctor Fernando Montoya, por su asesoría en el análisis estadístico. Bióloga Sara París.

SUMMARY

A total of 10 patients with chronic, nonhealing cutaneous wounds of the lower extremity (venous) were randomized and treated for 12 weeks with PDGF derived from autologous platelets or placebo. Epithelialization of the wound at 12 weeks was the end point of the study. The group who received treatment demonstrates that topical administration of PDGF significantly accelerates the healing of chronic, nonhealing cutaneous ulcers. $P=0.0003$.

Key words: venous ulcer, platelet derived growth factor (PDGF).

BIBLIOGRAFÍA

1. Knighton DR, Fiegel VD, Austin LL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. *Ann,Surg* 1986; 204:322-330.
2. Mesa J. Síndrome postflebitico. En: *Manual Práctico de Dermatología*. A.Cortés Cortés (ed.) Universidad de Antioquia, 1982.
3. Knighton DR, Ciresi K, Fiegel VD, et al. Stimulation of repair in chronic, nonhealing.cutaneous ulcers using plateled-derived wound healing formula. *Surg Gynecol Obst* 1990, 170:56-61.
4. Steed DL. Clinical evaluation of recombinant human plateled derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. *J Vasc Surgery* 1995; 21:71-81.
5. Robson MC, Phillis LG, Thomason A. Recombinant human plateled derived growth factor –bb for the treatment of chronic pressure ulcers. *Ann Plas Surg* 1992; 29:193-201.
6. Wieman TJ, Smiell JM, Su Y. Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human PDGF –bb (Becaplermin) in patients with chronic neuropathic diabetic ulcers. *Diabetes Care* 1998; 21:822-827.
7. Pittelkow MR. Grow Factors in the cutaneous biology and disease. *Adv in Dermatol* 1992; 7:58-81.
8. Knighton DR, Hunt TK, Takral KK et al. Role of platelets and fibrin in the healing sequence: an in vivo study of angiogenesis and collagen synthesis. *Ann Surg* 1982; 196:379-388.
9. Banda MJ, Knighthon DR, Hunt TK et al. Isolation of a nonmitogenic angiogenesis factor from wound fluid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:7773-7777.
10. Shimokado K, Raines EW, Madtes DK. A significant part of macrophage –derived growth factor consists of at least two forms of PDGF. *Cell* 1985; 43:277-286.
11. Mauch C, Oono T, Eckes B. The biology of granulation tissue. *Dermatology Progress & Perspectives*. The proceedings of the 18th World Congress of Dermatology. Burgdorf WH and Katz SI (eds). Partenon Publishing 1992.