

# TERAPIA CELULAR CON MEMBRANA AMNIÓTICA PARA LA EPITELIZACIÓN DE ÚLCERAS COMPLEJAS DE PIE DIABÉTICO

## CELL THERAPY WITH AMNIOTIC MEMBRANE FOR THE EPITHELIZATION OF COMPLEX DIABETIC FOOT ULCERS

**Autores:**  Mónica Rodríguez-Valiente <sup>(1)</sup>,  Ana María García-Hernández <sup>(2)</sup>,  Sonia Almansa-Saura <sup>(3)</sup>,  Ángel Bernabé-García <sup>(5)</sup>,  Miguel Blanquer-Blanquer <sup>(2)</sup>,  Sergio Liarte-Lastra <sup>(5)</sup>,  Patricio Alcaraz-Lorente <sup>(4)</sup>,  Gregorio Castellanos-Escrig <sup>(4)</sup>,  José María Moraleda <sup>(4)</sup>,  Francisco José Nicolás-Villaescusa <sup>(5)</sup>.

(1) PhD, RN, Podiatrist. Enfermera en la Unidad de Heridas y Pie Diabético del Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA). Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, IMIB-Arrixaca.

(2) PhD, MD. Unidad de Terapia Celular del Servicio de Hematología HCUVA. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, IMIB-Arrixaca.

(3) RN. Enfermera en la Unidad de Heridas y Pie Diabético del Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA). Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, IMIB-Arrixaca.

(4) PhD, MD. Unidad de Heridas y Pie Diabético del Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo HCUVA. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, IMIB-Arrixaca.

(5) PhD, MD. Regeneración, Oncología Molecular y TGFβ. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, IMIB-Arrixaca.

Contacto: [morodriguezva79@yahoo.es](mailto:morodriguezva79@yahoo.es)

Fecha de recepción: 07/02/2020  
Fecha de aceptación: 18/03/2020

Rodríguez-Valiente M, García-Hernández AM, Almansa-Saura S, Bernabé-García A, Blanquer-Blanquer M, Liarte-Lastra S, Alcaraz-Lorente P, Castellanos-Escrig G, Moraleda JM, Nicolás-Villaescusa FJ. Terapia celular con membrana amniótica para la epitelización de úlceras complejas de pie diabético. *Enferm Dermatol.* 2020; 14(39): 36-43. DOI: 10.5281/zenodo.3780037

### RESUMEN:

Nuestro objetivo fue determinar la seguridad y la eficacia del tratamiento con membrana amniótica (MA) para la epitelización de úlceras complejas de pie diabético, este tejido se obtiene de donantes sanas tras cesárea programada y serología negativa para enfermedades infecciosas. Se trataron a 18 pacientes con macro y micro-angiopatía diabética y deformaciones en los pies que presentaban úlceras de pie diabético con más de 8 semanas de evolución. La mediana de edad fue de 62 años. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) dio la autorización como uso compasivo en todos los pacientes. La terapia se aplicó semanalmente sobre el lecho de la herida. El tiempo medio de tratamiento antes de la aplicación de MA fue de 24 meses y medio. El área promedio de las heridas fue de 10,56 cm<sup>2</sup> (0,52 – 42,5). El tiempo medio de epitelización con MA fue de 5 meses (1,5-13) con una media de 11,22 membranas aplicadas (4-40). Ningún paciente desarrolló acontecimientos adversos durante el tratamiento. Nuestros resultados muestran que el tratamiento con MA humana criopreservada es un tratamiento seguro y efectivo en pacientes con úlceras complejas de pie diabético.

**Palabras clave:** Membrana amniótica, Úlceras, Pie diabético, heridas, terapia celular.

### ABSTRACT:

Our objective was to determine the safety and efficacy of amniotic membrane (AM) treatment for epithelialization of complex diabetic foot ulcers, this tissue is obtained from healthy donors after scheduled caesarean section and negative serology for infectious diseases. Eighteen patients with diabetic macro and micro-angiopathy and foot deformations who presented diabetic foot ulcers with more than eight weeks of evolution were treated. The median age was 62 years. The Spanish Agency for Medicines and Health Products (AEMPS) gave the authorization as compassionate use in all patients. The therapy was applied weekly on the wound bed. The mean treatment time before AM application was 24 and half months. The average area of the wounds was 10.56 cm<sup>2</sup> (0.52 - 42.5). The mean time for epithelialization with AM was 5 months (1.5-13) with a mean of 11.22 applied membranes (4-40). No patient developed adverse events during treatment. Our results show that cryopreserved human MA treatment is a safe and effective treatment in patients with complex diabetic foot ulcers.

**Key words:** Amniotic Membrane, Ulcers, Diabetic Foot, Wounds, Cell Therapy.

### INTRODUCCIÓN:

La neuropática y vasculopatía son complicaciones de la Diabetes Mellitus que pueden desencadenar úlceras de difícil resolución. El "pie diabético" es una complicación que aparece entre el 15 y el 25% de los pacientes con Diabetes Mellitus de larga evolución, siendo una patología creciente que se asocia a una elevada morbilidad y un incremento de costes para el sistema sanitario<sup>(1,2)</sup>. Se trata de una malformación neuromusculo-esquelética progresiva de etiopatogenia desconocida, cuyo factor predisponente fundamental es la neuropatía mixta crónica que conduce a traumatismos internos y/o externos desencadenantes de ulceraciones, en ocasiones agravadas por isquemia arterial o infecciones<sup>(1,3,4)</sup>.

Su incidencia anual es del 2-3% y del 7% en pacientes neuropáticos, y su prevalencia del 2-10%<sup>(2)</sup>. En la actualidad, el tratamiento de estas úlceras complejas plantea controversias, debido a que la cicatrización de estos pacientes se encuentra seriamente dañada como consecuencia de alteraciones inmunitarias locales y biológicas<sup>(5-7)</sup>. Así, existen pacientes en los que las úlceras, una vez estabilizada la fase infecciosa aguda, revascularizadas y con la descarga ortopédica adecuada se curan en un relativamente corto periodo de tiempo, mientras que en otros casos las úlceras persisten durante años, debido a una alteración de la cicatrización<sup>(7)</sup> a pesar de las medidas terapéuticas establecidas según el protocolo T.I.M.E.<sup>(8)</sup>, curas ambientales y/o Terapia de Presión Negativa Tópica (TPNT).

La Membrana Amniótica (MA) es la capa interna de la placenta; bajo el punto de vista práctico es fácilmente separable del resto de estructuras placentarias, y su extracción, procesamiento y transporte son sencillos. La MA es un tejido de particular interés como apósito biológico debido a su especial estructura y propiedades biológicas<sup>(8)</sup>. Por otro lado, es un tejido inmunoprivilegiado que no desencadena rechazo inmunológico y que no induce tumores<sup>(9-11)</sup>. Estas propiedades se han relacionado en parte con su capacidad para sintetizar y liberar sustancias que incluyen citoquinas y moléculas de señalización como el Factor de Necrosis Tumoral, Interferón, Factor de Crecimiento Transformante (TGF), Factor de Crecimiento Fibroblástico básico (bFGF), Factor de Crecimiento epidérmico (EGF), IL-4, IL-6, IL-8, inhibidores naturales de las metaloproteasas, defensinas y prostaglandinas, etc.<sup>(9-17)</sup>.

Así se ha demostrado que proporciona una excelente matriz para la migración y proliferación celular favoreciendo la epitelización y que tiene propiedades anti-inflamatorias, anti-fibróticas, anti-bacterianas y analgésicas<sup>(18-20)</sup>.

Desde hace décadas la MA se ha empleado en lesiones dermatológicas, oftálmicas, quemaduras cutáneas, heridas, regeneración de tejidos blandos y en epidermolisis bullosa habiéndose establecido su seguridad y eficacia en base a sus diversas propiedades biológicas<sup>(18-22)</sup>. Más recientemente se han publicado algunos estudios que señalan la eficacia terapéutica de la MA usada como apósito biológico en el manejo de úlceras crónicas vasculares en extremidades inferiores rebeldes a otros tratamientos<sup>(21,23,24)</sup>.

Los datos publicados indican que la MA en algunas circunstancias se ha utilizado como membrana intacta, en otras sin epitelio, en otras patologías como membrana fresca o irradiada y en la mayoría como MA preservada o deshidratada. Existen aloinjertos de MA deshidratada comerciales (EpiFix®) que han conseguido demostrar buenos resultados en epitelización de heridas y úlceras diabéticas neuropáticas, aunque con un coste elevado de alrededor de 600 euros por apósito<sup>(25-27)</sup>.

Nuestro grupo ha utilizado la MA criopreservada (-196°C) para favorecer la epitelización de extensas heridas postraumáticas, tras la regeneración de los tejidos blandos con TPNT. En estos estudios la evaluación de la respuesta se realizó desde el punto de vista clínico e histológico, además de un análisis inmunohistoquímico y molecular. Los resultados en todos los casos preliminares demostraron un efecto favorecedor de la epitelización y ello nos ha permitido establecer algunas hipótesis sobre los probables mecanismos de acción<sup>(26, 28)</sup>.

Una hipótesis en la que trabaja nuestro grupo induce a pensar que un estudio que demuestra que la MA modula la respuesta de los queratinocitos al TGFbeta liberado en el lugar de la herida, favoreciendo su proliferación y migración, promoviendo por tanto la progresión en el cierre y epitelización de la herida. Basados en esta experiencia inicial, y apoyados en la disponibilidad de una Unidad de Producción Celular (UPC) con capacidad para obtener, procesar y almacenar MA nos propusimos utilizar esta como apósito biológico en el tratamiento de úlceras crónicas quiescentes de pie diabético.

En este trabajo se exponen los resultados obtenidos con este tratamiento.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Este estudio se llevó a cabo en la Unidad de Heridas Complejas y Pie Diabético del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), entre Mayo de 2014 y Noviembre de 2017.

Se trataron un total de 18 pacientes: 13 varones y 5 mujeres, con una mediana de edad de 62 años (16-82). De ellos, 14 pacientes presentaban DM tipo-II y 4 DM tipo-I. Todos presentaban deformaciones en los pies.

Para el tratamiento y abordaje de estas úlceras, previamente se realizó el tratamiento quirúrgico de las zonas infectadas mediante resecciones óseas, drenajes y/o amplios desbridamientos de partes blandas, además de antibioterapia, inicialmente empírica y posteriormente guiada por cultivo y antibiograma.

Posteriormente, se procedió a curas locales de las heridas adecuadas al protocolo T.I.M.E (T: control del tejido no viable, I: control de la inflamación e infección, M: control del exudado, E: estimulación de los bordes epiteliales), de forma ambiental y/o cerrada con Terapia de Presión Negativa Tópica (TPNT).

La neuropatía fue valorada mediante electromiografía con electromiógrafo digital de tres canales (Viking™ Synergy Natus 2015), la vasculopatía mediante Eco-Doppler (Philips IU 22), para la angiografía se utilizó el sistema (Artiszeecel VC 14 de Siemens). Cuando fue necesaria la revascularización se practicó arteriografía transfemoral y angioplastia con balón percutáneo (Advance 14 LP Cook). La morfología de los pies se estudió mediante Scanner (GE lightspeed VCT 64 CT Scanner).

Se analizó la hemoglobina glicosilada (HbA<sub>1c</sub>) mediante una técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (Horiba Medical G8), el control microbiológico se efectuó mediante la toma de muestra del tejido con hisopo y/o biopsia, en medio de transporte AMIES VISCOSA (deltalabSterile R. CE).

El cultivo microbiológico se realizó en placas en los medios de cultivo (Agar sangre, Agar chocolate, Agar Macconkey) para aerobios a 37°C con CO<sub>2</sub> durante 24 horas, y en los medios SCS y SNVS en jarra de

anaerobiosis, durante 48h a 37°C para anaerobios. Para el transporte de las biopsias hasta anatomía patológica, se utilizó un envase estéril con formalina (AppliChem Panreac. Ref.256462 Histofix Preservative readyto use DC).

En dos pacientes (paciente nº8 y paciente nº15) se tomaron biopsias mediante un punch de 3mm antes del tratamiento con MA y después de dos semanas de tratamiento para valorar las características anatomo-patológicas del tejido formado. Las biopsias fueron procesadas en bloques de parafina y la preparación se realizó con la tinción de Hematosilina- Eosina.

En todos los casos se efectuaron descargas ortoprotésicas individualizadas (bota Walker, Óptima, Walker presurizada, Férula de descarga de calcáneo, órtesis plantares, zapatos ortopédicos de plastazote, zapato postquirúrgico y fieltros).

Para la valoración de focos osteomielíticos en tres pacientes se realizó con la administración de 370 MBq de leucocitos autólogos marcados con Tc99m-HMPAO, mediante una Ganmacámara Philips.

El tamaño y medición del área de las úlceras se efectuó mediante imágenes fotográficas y el programa informático de procesamiento digital JImage desarrollado en el National Institute of Health en 1997.

Tras el alta hospitalaria se efectuó control y cura de las heridas en régimen ambulatorio valorando el cierre de las ulceraciones, y aquellos pacientes que no obtenían resultados positivos y en los que se observaba cronificación de la úlcera con retraso del proceso de epitelización de más de 8 semanas, se incluyeron en el protocolo de aplicación terapéutica de MA por uso compasivo.

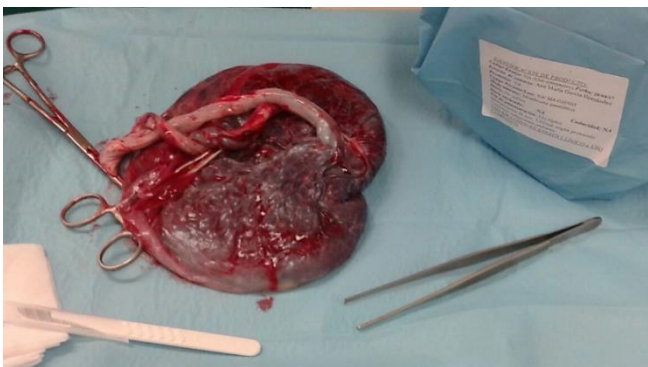
Previa detallada información al paciente y tras la firma de consentimiento informado se solicitó de forma individual la aprobación por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) y la autorización del comité ético de investigación clínica del HCUV Arrixaca.

La extracción de la MA se llevó a cabo en el quirófano (Figura 1). Todas las donantes, fueron mujeres sanas con embarazo a término sometidas a cesárea electiva por causas obstétricas y con serología negativa para HIV, HBV, HCV, HTLV I/II, VDRL, CMV, EBV y TG.



## TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN

A todas las donantes se les había solicitado y habían firmado el consentimiento informado. Desde el quirófano la MA (Imagen 1) había sido trasladada a la Unidad de Producción Celular (UPC) en un frasco estéril que contenía 1000ml de Solución Salina Fisiológica (SSF) y antibióticos (48 mg de Cotrimoxazol® 50mg. Tobramicina® y 50mg. Vancomicina®). Allí había sido procesada y criopreservada a (- 196C°) y almacenada en un tanque de nitrógeno líquido hasta su utilización. En el momento de su uso, se realizó la descongelación y lavado de la MA en condiciones asépticas en la UPC, y posteriormente se trasladó a la unidad de pie diabético, sujeta con cuatro puntos de seda a un apósito lipocoloide, en un kit de traslado con control de temperatura, con identificación del paciente y el facultativo que la solicita, y con una hoja informativa sobre su aplicación y caducidad.



**Imagen 1:** Discección estéril de membrana amniótica en el quirófano tras la cesárea.

Previamente, en la unidad de pie diabético, al paciente de forma aséptica se le había limpiado la herida, la piel perilesional con agua y esponja estéril jabonosa, y se había desinfectado con clorhexidina al 0,5%, desbridando el lecho ante la presencia de esfacelos. Tras la preparación de un campo estéril, la MA se aplicó sobre la úlcera del paciente quedando en la parte superior el apósito lipocoloide (Imagen 2).



**Imagen 2:** Aplicación de membrana amniótica sobre el lecho de la herida cubriendo los bordes.

La aplicación se repitió cada 7-10 días hasta la epitelización o cierre de la úlcera, realizando una revisión de la herida a los tres días de la primera aplicación.

En todos los pacientes se registró el tiempo de evolución de las lesiones previo al inicio del tratamiento con MA, el área previa de las lesiones, el número de fragmentos de MA aplicados, el tiempo de aplicación con MA, y el porcentaje de epitelización. También se registraron los resultados de los cultivos microbiológicos y los efectos adversos como infección, aumento del área, aparición de tumoraciones o signos de rechazo o de cicatrización patológica.

Tras el cierre de las lesiones se realizó un seguimiento mensual de los pacientes para revisión y prevención de nuevas úlceras con control ortoprotésico.

### RESULTADOS:

Los 18 pacientes experimentaron una reducción del área de la úlcera, contracción de la herida, aproximación de los bordes y epitelización final. En la **tabla 1** se muestran las características de los pacientes tratados con MA.

Todos los pacientes fueron tratados con diversos apósitos comerciales según las características que presentaban las úlceras. En 17 pacientes fue necesaria antibioterapia sistémica y una exéresis ósea parcial o total previa al tratamiento con MA.

Se constató en un 72% de los pacientes una hemoglobina glicosilada superior a 6,5% antes del inicio del tratamiento.

En tres pacientes se registró un ITB  $\geq 1,1$ . Nueve pacientes presentaron un ITB entre 0,9 y 1. Cuatro pacientes entre 0,8 y 0,9 y dos pacientes presentaron un ITB  $\leq 0,5$ .

Referente a la localización de las úlceras de pie diabético tratadas, 10 fueron en antepie, 5 en mediopie y 3 en retropié.

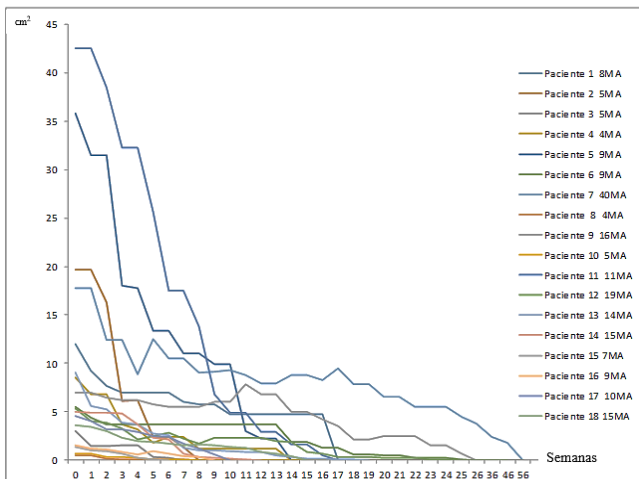
El tiempo medio de tratamiento previo a la aplicación de MA en los pacientes fue de 24 meses y medio y el área media de las heridas fue de 10,56 cm<sup>2</sup> (0,52 cm<sup>2</sup>-42,5 cm<sup>2</sup>).

No se observó ningún acontecimiento adverso relacionado con la aplicación de la MA, en dos pacientes se realizaron exéresis óseas durante el tratamiento posiblemente por la presencia de una osteomielitis no detectada previa al tratamiento con MA.

| PAC | TPNT | PRP | CH | REV | HbA1c | AMC | ITB  | T. TTO meses | A. P cm <sup>2</sup> | GRADO WAGNER | LOCALIZACIÓN |
|-----|------|-----|----|-----|-------|-----|------|--------------|----------------------|--------------|--------------|
| 1   | NO   | SI  | SI | SI  | 6,40  | NO  | 0,87 | 7            | 12                   | III          | AP           |
| 2   | SI   | NO  | SI | NO  | 4,90  | NO  | 1    | 2            | 19,70                | II           | MP           |
| 3   | SI   | NO  | SI | SI  | 8,50  | NO  | 0,80 | 36           | 3                    | II           | MP           |
| 4   | SI   | NO  | NO | NO  | 7,40  | NO  | 1,1  | 48           | 8,50                 | II           | MP           |
| 5   | SI   | NO  | NO | SI  | 7,10  | SI  | 0,90 | 7            | 35,80                | IV           | AP           |
| 6   | SI   | NO  | NO | SI  | 6,70  | NO  | 0,90 | 18           | 5,50                 | II           | MP           |
| 7   | NO   | NO  | NO | NO  | 9,50  | SI  | 0,40 | 18           | 17,74                | III          | RP           |
| 8   | SI   | NO  | NO | NO  | 6     | NO  | 1    | 10           | 0,52                 | II           | MP           |
| 9   | NO   | NO  | NO | NO  | 10,20 | SI  | 0,80 | 7            | 7                    | II           | RP           |
| 10  | NO   | NO  | NO | NO  | 9,50  | NO  | 1    | 12           | 0,70                 | II           | AP           |
| 11  | SI   | NO  | NO | NO  | 6,90  | NO  | 0,90 | 4            | 42,50                | III          | AP           |
| 12  | NO   | NO  | NO | NO  | 5,50  | NO  | 0,50 | 6            | 5,30                 | II           | AP           |
| 13  | NO   | NO  | NO | SI  | 8,80  | NO  | 1,15 | 5            | 9                    | II           | AP           |
| 14  | NO   | NO  | NO | NO  | 4,80  | NO  | 1,27 | 9            | 4,98                 | III          | AP           |
| 15  | NO   | NO  | SI | SI  | 7,8   | NO  | 1    | 4            | 1,53                 | II           | RP           |
| 16  | SI   | NO  | NO | NO  | 7     | NO  | 0,90 | 2            | 4,52                 | II           | AP           |
| 17  | SI   | NO  | NO | NO  | 7     | NO  | 0,8  | 4            | 8,3                  | II           | AP           |
| 18  | NO   | NO  | NO | NO  | 6,20  | NO  | 0,90 | 5            | 3,60                 | II           | AP           |

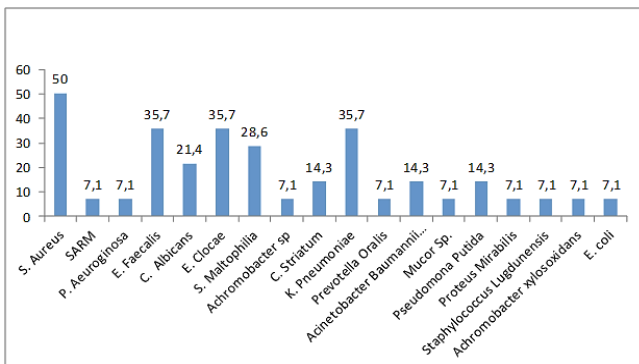
**Tabla 1.** Características de los pacientes, tipo y localización de las úlceras. (TPNT: Terapia de Presión Negativa Tópica, PRP: Plasma Rico en Plaquetas, CH: Cámara Hiperbárica, REV: Revascularización, AMC: Amputación del Miembro Contralateral, ITB: Índice Tobillo Brazo, T.TTO: Tiempo de tratamiento, A.P: Área previa. AP: Antepie, MP: Medio pie, RP: Retropié).

En cuanto al tiempo medio de epitelización con MA fue de 145 días (46-392) con una media de 11,22 membranas (4-40) (Imagen 3).



**Imagen 3:** Disminución del área, ritmo de epitelización en semanas y número de membranas amnióticas aplicadas.

Los microorganismos aislados en las úlceras durante la aplicación de MA se representan en la Imagen 4.

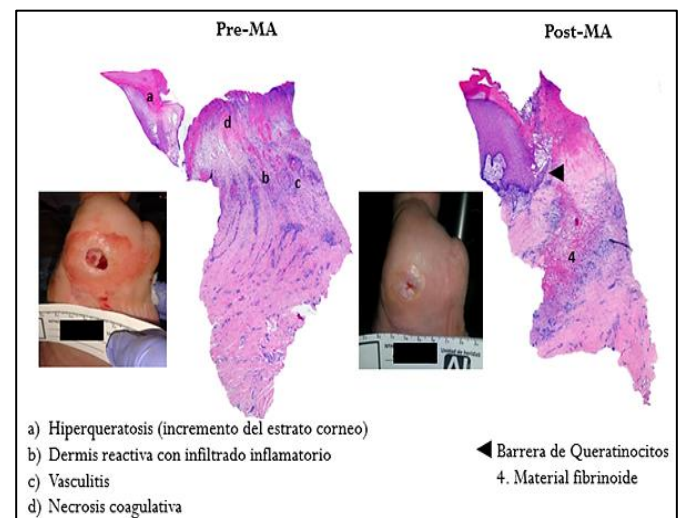


**Imagen 4:** Porcentaje de microorganismos aislados en los cultivos microbiológicos realizados en las úlceras durante el tratamiento con MA.

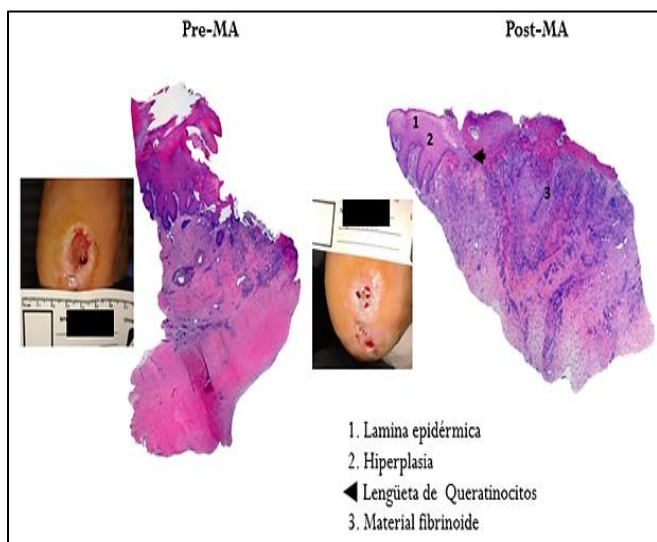
El microorganismo aislado con mayor frecuencia en este tipo de úlceras fue el S. Aureus seguido de E. Faecalis, E. Clocae y K. Neumonae dato que coincide con la bibliografía revisada y que se discutirá posteriormente en la parte de discusión del presente trabajo.

Tras el estudio estadístico de las variables analizadas con el programa informático SPSS v.21, se establece una correlación inversa con el parámetro analizado Índice Tobillo Brazo (ITB), ya que a medida que disminuyen los valores de ITB aumenta el tiempo de epitelización y el número de MA aplicadas.

El proceso cicatricial normal se muestra con las imágenes obtenidas de las biopsias realizadas en dos pacientes antes y después del tratamiento con MA (Imágenes 5 y 6).



**Imagen 5:** Biopsia en paciente nº 8 previo y posterior al tratamiento con MA tinción Hematoxilina-eosina.



**Imagen 6:** Biopsia en paciente n° 15 previo y posterior al tratamiento con MA tinción Hematoxilina–eosina

Existe una correlación significativa e inversa ( $p < 0,004$ ) entre el ITB y el número de membranas ( $p: -0,637$ ) y una correlación significativa inversa ( $p < 0,0001$ ) entre el ITB y días de epitelización ( $p: -0,765$ ).

El test de Anova muestra una diferencia significativa entre la localización de las úlceras, el número de membranas y el tiempo de epitelización siendo la zona posterior (talón) aquellas úlceras que más tiempo tardaron en epitelizar y más membranas requirieron.

Tras el seguimiento de los pacientes al año y dos años de epitelizar sus heridas, en dos pacientes se ocasionaron nuevas úlceras (paciente n° 7 y n° 9), dando lugar en un a la amputación del miembro inferior en el paciente 7, mientras que el paciente 9 continúa en tratamiento con TPNT y curas ambientales. Un paciente presentó una recidiva de su úlcera tras un mes (paciente n° 3). El resto de pacientes continúan con sus úlceras epitelizadas y con un buen aspecto de la piel, no se presencia cicatriz hipertrófica, queloidea ni dolorosa en ningún caso.

### DISCUSIÓN:

Al igual que lo observado por otros autores<sup>(21,26,29-32)</sup> nuestros pacientes presentaron una evolución muy favorable hacia la epitelización completa.

La reducción del área de la herida fue el dato clínico más relevante, aunque también observamos una disminución sustancial del dolor en dos pacientes, lo que confirma las observaciones de otros grupos de investigadores<sup>(21,23-26,29-33)</sup>.

Clínicamente, en dos pacientes se apreció un efecto positivo sobre la regulación de la hipergranulación. En todos los pacientes se produjo una reducción de las áreas ulcerosas, aumento del tejido de granulación, la contracción y aproximación de los bordes de la herida y la epitelización. En este sentido los datos biológicos aportados por Insausti y col<sup>(26,28)</sup> en estudios realizados previamente por nuestro grupo, muestran efectos relevantes sobre la migración de queratinocitos y los posibles mecanismos moleculares implicados en el proceso de epitelización, aunque estos datos no han sido estudiados en pacientes con patología metabólica como es la diabetes mellitus y afecciones concomitantes derivadas de la misma.

Nuestros resultados muestran que la MA puede ser utilizada tras estabilización clínica de la úlcera una vez corregidos los signos de infección, aunque los cultivos microbiológicos muestren carga bacteriana positiva e incluso en aquellos pacientes que estén con tratamiento antibiótico establecido transitoriamente.

En nuestra serie, observamos en todos los pacientes una tendencia a la disminución del número de microorganismos con el tratamiento con MA, dato aportado también por otros autores<sup>(21,22,24,26,27,33)</sup>.

Aunque el costo-eficacia del tratamiento convencional versus MA en estos pacientes con úlceras crónicas está por determinar, la aplicación la MA podría disminuir los costes al realizarse de forma ambulatoria, ya que el gasto sanitario generado por las infecciones recurrentes, los ingresos continuos y amputaciones menores o mayores es muy elevado<sup>(34,35)</sup>.

La aplicación de la MA es además un procedimiento cómodo para el paciente ya que se puede realizar de forma ambulatoria y ello contribuir a la disminución de costos y a la mejora de la calidad de vida de los pacientes. Por otro lado, la MA es un tejido de fácil obtención, sin connotaciones morales y éticas para su uso y que no requiere técnicas de aplicación invasivas.

Quedaría por determinar con estudios posteriores los efectos biológicos y moleculares que influyen en los efectos favorables observados en las diferentes fases del proceso de epitelización de las úlceras en pacientes diabéticos, así como un ensayo clínico reglado con grupo control y el estudio de costo-eficacia. Nuestro grupo está trabajando en todos estos aspectos para despejar las incógnitas aún no resueltas.



## CONCLUSIONES:

Los datos presentados muestran que la aplicación de la MA en las úlceras del pie diabético es un tratamiento factible, seguro y eficaz. Nuestros resultados sugieren un efecto positivo de la aplicación de la MA en la evolución hacia la epitelización de úlceras complejas crónicas y, en consecuencia, si estos datos se confirman, este podría ser un tratamiento alternativo a las terapias actualmente utilizadas.

No se observaron complicaciones relacionadas con su aplicación y se demuestra una evolución favorable hacia la curación de las úlceras de larga evolución, en pacientes que han fallado a los tratamientos convencionales.

La patología del pie diabético constituye una enfermedad con multitud de factores que predisponen reulceraciones, cronicidad de las úlceras y difícil evolución hacia la epitelización, a pesar de que el tratamiento con MA puede ayudar de forma puntual en el tratamiento de estas úlceras, esta patología es muy compleja y estos pacientes pueden desencadenar nuevas ulceraciones que en ocasiones desencadenan en traumáticas amputaciones tras años de tratamiento.

Por lo que se hace necesaria la puesta en marcha de unidades específicas con un grupo multidisciplinar de profesionales especializados que atiendan a estos pacientes, así como la educación e información por parte del profesional sanitario sobre los cuidados de la Diabetes Mellitus y en consecuencia del "pie diabético" para la prevención de úlceras en pacientes de riesgo.

## CONFLICTOS DE INTERÉS:

Los autores declaran la ausencia de cualquier conflicto de interés.

## FINANCIACIÓN:

Este trabajo ha sido financiado con la ayuda para la realización de proyectos de investigación en cuidados de enfermería (FFIS17/CE/01). Línea estratégica de investigación de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (carm): diabetes.

## AGRADECIMIENTOS:

A todas las personas que han hecho posible la realización de esta trabajo, compañeros y compañeras que continúan con ilusión su enorme labor en el tratamiento y cuidado de los pacientes. Y por supuesto, a los pacientes, por confiar en nosotros su salud.

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Snyder RJ, Hanft JR. Diabetic foot ulcers--effects on QOL, costs, and mortality and the role of standard wound care and advanced-care therapies. *Ostomy Wound Manage.* 2009; 55: 28–38.
2. Schultz GS, Davidson JM, Kirsner RS, Bornstein P, Herman IM. Dynamic reciprocity in the wound micro-environment. *Wound Repair Regen.* 2011; 19: 134–18.
3. Blanes JI, Representatives of Spanish Society of Surgeons (ACS), Representatives of Spanish Society of Angiology and Vascular Surgery (SEACV), Representatives of Spanish Society of Emergency Medicine (SEMES), Spanish Internal Medicine Society (SEMI), Representatives of Spanish Society of Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC), Representatives of Spanish Society of Chemotherapy (SEQ). Consensus document on treatment of infections in diabetic foot. *Rev Esp Quimioter.* 2011; 24: 233–62.
4. O'Loughlin A, McIntosh C, Dinneen SF, O'Brien T. Review paper: basic concepts to novel therapies: a review of the diabetic foot. *Int J Low Extrem Wounds.* 2010; 9: 90–102.
5. Blakytyn R, Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabet Med J.* 2006; 2: 3, 594–608.
6. Andrades P, Sepúlveda S, González J. Curación avanzada de heridas. *Rev Chilena Cirugía.* 2004; 56(4): 396-403.
7. Muñoz DL, García LM, León SG. Estandarización de cuidados en pacientes con úlceras de extremidad inferior de etiología venosa. *NURE Investig.* 2012; 61.
8. Niknejad H, et al. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cell Mater.* 2008; 15: 88–99.
9. Tamagawa T, Ishiwata I, Saito S. Establishment and characterization of a pluripotent stem cell line derived from human amniotic membranes and initiation of germ layers in vitro. *Hum Cell.* 2004; 17:125–30.
10. Alviano F, et al. Term Amniotic membrane is a high throughput source for multipotent Mesenchymal Stem Cells with the ability to differentiate into endothelial cells in vitro. *BMC Dev Biol.* 2007; 7: 11.
11. Insausti CL, Rodríguez M, Castellanos G, Moraleda JM. Propiedades inmunomoduladoras de las células madre de la membrana amniótica. Nuevas perspectivas. *Rev Hematol Mex.* 2014, 15(1).

## TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN

---

12. Rutigliano L, et al. Molecular characterization and in vitro differentiation of feline progenitor-like amniotic epithelial cells. *Stem Cell Res Ther.* 2013; 4: 133.
13. Parolini O, et al. Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells Dayt. Ohio.* 2008, 26: 300–11.
14. Paradowska E, Blach-Olszewska Z, Gejdel E. Constitutive and induced cytokine production by human placenta and amniotic membrane at term. *Placenta.* 1997; 18: 441–6.
15. Li H. et al. Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46:900–7.
16. Zhou K, et al. Establishment and characterization of immortalized human amniotic epithelial cells. *Cell Reprogramming.* 2013; 15:55–67.
17. Gomes JAP, Romano A, Santos MS, Dua HS. Amniotic membrane use in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol.* 2005; 16:233–40.
18. Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol.* 1997; 124:765–74.
19. Tseng SC, Prabhasawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch. Ophthalmol Chic.* 1998; 431–41.
20. Hasegawa T, et al. Amnia for intractable skin ulcers with recessive dystrophic epidermolysis bullosa: report of three cases. *J Dermatol.* 2007; 34:328–32.
21. Toda A, Okabe M, Yoshida T, Nikaido T. The potential of amniotic membrane / amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *J Pharmacol Sci.* 2007; 105: 215–28.
22. [Pestil F, Drouet M, Rousanne Mc, Lacroix P. Amniotic membrane: An innovative treatment of refractory vascular ulcers? \*Phlebology.\* 2009; 16\(2\): 259-65.](#)
23. Mermert I, et al. Use of amniotic membrane transplantation in the treatment of venous leg ulcers. *Wound Repair Regen.* 2007; 15: 459–64.
24. Alsina-Gibert M, Pedregosa-Fauste S. Amniotic membrane transplantation in the treatment of chronic lower limb ulcers. *Actas Dermo-Sifiliográficas.* 2012; 103: 608–13.
25. Zelen CM. An evaluation of dehydrated human amniotic membrane allografts in patients with DFUs. *J Wound Care.* 2013; 22: 347–8, 350–1.
26. Insausti CL, et al. Amniotic membrane induces epithelialization in massive posttraumatic wounds. *Wound Repair Regen.* 2010; 18: 368–77.
27. Ganatra MA. Amniotic membrane in surgery. *JPMA J. Pak Med Assoc.* 2003; 53: 29–32.
28. Insausti CL, et al. The amniotic membrane as a source of stem cells. *Histol Histopathol.* 2010; 25: 91–8.
29. Zelen CM, Serena TE, Denozziere G, Fetterolf DE. A prospective randomised comparative parallel study of amniotic membrane wound graft in the management of diabetic foot ulcers. *Int Wound J.* 2013; 10: 502–7.
30. Shah AP. Using amniotic membrane allografts in the treatment of neuropathic foot ulcers. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2014; 104:198–202.
31. Zelen CM, Serena TE, Snyder RJ. A prospective, randomised comparative study of weekly versus biweekly application of dehydrated human amnion/chorion membrane allograft in the management of diabetic foot ulcers. *Int Wound J.* 2014; 11:122–8.
32. Forbes J, Fetterolf DE. Dehydrated amniotic membrane allografts for the treatment of chronic wounds: a case series. *J Wound Care.* 2012; 21:290, 292, 294–6.
33. Werber B, Martin E. A prospective study of 20 foot and ankle wounds treated with cryopreserved amniotic membrane and fluid allograft. *J Foot Ankle Surg.* 2013; 52:615–21.
34. Fife CE, Carter MJ. Wound Care Outcomes and Associated Cost Among Patients Treated in US Outpatient Wound Centers: Data From the US Wound Registry. *Wounds Compend Clin Res Pract.* 2012; 24: 10–7.
35. Fairbairn NG, Randolph MA, Redmond RW. The clinical applications of human amnion in plastic surgery. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2014; 662–75.