

Πλήρης epούλωση χρόνιου διαβητικού έλκους μετά από έναν μήνα με διατήρηση του αποτελέσματος για 4 χρόνια μετά από τη χορήγηση αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό. Περιγραφή περίπτωσης

Τ. Διδάγγελος¹
Γ. Κολιάκος²
Σ. Γεώργα³
Κ. Κοτζάμπαση⁴
Δ. Καραμάνος⁵
Κ. Κούζη-Κολιάκου⁶
Ε. Καρλάφτη¹
Κ. Τζιόμαλος¹
Γ. Άρσος³
Α. Χατζητόλιος¹

Περίληψη

Πρόσφατες in vivo μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων μπορεί να συμβάλει στην epούλωση ελκών με πολλούς μηχανισμούς. Από την άλλη πλευρά αρκετές φορές στην καθ' ημέρα κλινική πράξη παρατηρούνται χρόνια μη epουλούμενα διαβητικά έλκη ανθιστάμενα στη συνήθη θεραπευτική αντιμετώπιση και αποτελούν αιτία λοιμώξεων και πιθανού ακρωτηριασμού. Η χορήγηση βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό σε αυτά τα έλκη αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη θεραπευτική επιλογή.

Ασθενής γυναίκα με Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) τύπου 1, ηλικίας 47 ετών, με διάρκεια ΣΔ 24 χρόνια, προσήλθε πριν από 5 χρόνια με ένα χρόνο μη epουλούμενο έλκος στην πελματιαία επιφάνεια του δεξιού άκρου ποδός κάτω από την κεφαλή του δεύτερου μεταταρσίου οστού. Με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας διαπιστώθηκε η ύπαρξη οστεομυελίτιδας και η ασθενής έλαβε θεραπευτική αγωγή με αντιβιοτικά για χρονικό διάστημα 6 μηνών. Στο τέλος της θεραπείας πραγματοποιήθηκε σπινθηρογράφημα με επισημασμένα λευκά αιμοσφαίρια, το οποίο ήταν φυσιολογικό. Στην περιοχή του έλκους όμως, παρά την ίαση από την οστεομυελίτιδα, δεν παρατηρούνταν σημεία epούλωσης για χρονικό διάστημα 6 μηνών, μετά τη διακοπή της αντιβίωσης. Ως εναλλακτική επιλογή epούλωσης του έλκους, αποφασίσθηκε η χορήγηση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό μετά από κατάλληλη εργαστηριακή προετοιμασία. Έναν μήνα μετά από τη χορήγηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων στην περιοχή του έλκους παρατηρήθηκε πλήρης epούλωση του έλκους, η οποία διατηρήθηκε για 4 χρόνια μετά τη χορήγηση.

Συμπέρασμα: Η χορήγηση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό συνέβαλε στην πλήρη epούλωση ενός χρόνιου μη epουλούμενου διαβητικού έλκους έναν μήνα μετά από τη χορήγησή τους. Αυτός ο τρόπος θεραπευτικής αντιμετώπισης μπορεί να αποδειχθεί επωφελής και σε άλλες ανάλογες περιπτώσεις.

¹ Διαβητολογικό Κέντρο, Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική ΑΠΘ, Νοσ. ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

² Τμήμα Βιοχημείας, ΑΠΘ

³ Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής, ΑΠΘ, Νοσ. «Παπαγεωργίου», Θεσσαλονίκη

⁴ Χειρουργική Κλινική ΑΠΘ, Νοσ. ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

⁵ Αγγειοχειρουργική Κλινική ΑΠΘ, Νοσ. «Παπαγεωργίου», Θεσσαλονίκη

⁶ Τμήμα Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, ΑΠΘ

Οι ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη και πτωχή μεταβολική ρύθμιση παρουσιάζουν ιδιαίτερα αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νευροπάθειας και ανάπτυξης ελκών στα κάτω άκρα. Η διαβητική περιφερική

αισθητικοκινητική νευροπάθεια με τη μείωση της αντίληψης της αίσθησης του πόνου και την ανάπτυξη στο πέλμα περιοχών αυξημένης πίεσης, καθιστούν το πόδι ιδιαίτερα ευάλωτο στην ανάπτυξη ελκών είτε από τη δημιουργία τυλώδους ιστού είτε ακόμη και απευθείας από μικρά τραύματα^{1,2}. Επιπρόσθετα, τα έλκη αποτελούν πύλη εισόδου μικροβίων και εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης λοίμωξης, οστεομυελίτιδας και ακρωτηριασμού.

Επιπλέον, η διαβητική μακρο- και μικροαγγειοπάθεια δύνανται να επιτείνουν, με την ισχαιμία που προκαλούν, το πρόβλημα³. Το 15% των ασθενών με ΣΔ θα αναπτύξει έλκος στο πόδι κατά την διάρκεια της ζωής του³. Τα έλκη αποτελούν σήμερα την κυριότερη αιτία ανάγκης για νοσηλεία των ασθενών με ΣΔ, με μεγάλο οικονομικό κόστος και είναι η κυριότερη αιτία μη τραυματικών ακρωτηριασμών παγκοσμίως⁴. Πολλά από τα έλκη αυτά είτε καθυστερούν να επουλωθούν και δημιουργείται ουλώδης ιστός είτε παραμένουν χρονίως μη επουλούμενα. Τα χρόνια μη επουλούμενα έλκη έχει αναφερθεί ότι ευθύνονται για το 70%-80% των ακρωτηριασμών που πραγματοποιούνται σε ασθενείς με ΣΔ⁴. Αποτελούν έναν διαρκή κίνδυνο για την ανάπτυξη λοίμωξης και οστεομυελίτιδας και πιθανόν και σηψαιμίας με κίνδυνο ακόμη και της ζωής του ασθενούς, αν δεν αντιμετωπισθεί κατάλληλα η λοίμωξη. Να τονισθεί ότι πριν από μερικά χρόνια η ανάπτυξη οστεομυελίτιδας και μόνον αποτελούσε αιτία χειρουργικής επέμβασης και ακρωτηριασμού του άκρου. Για όλους αυτούς τους λόγους τα διαβητικά έλκη αποτελούν και αιτία αυξημένης θνητότητας⁴.

Η πλήρης επούλωση ενός έλκους είναι μία απόλυτα επιτυχής βιολογική διαδικασία επαναφοράς της πλήρους ακεραιότητας του δέρματος και των φραγμών του μετά από κάποια βλάβη. Για την πλήρη επούλωση και την αποκατάσταση σε υγιές δέρμα ενός έλκους απαιτείται ο συγχρονισμός των ακόλουθων μηχανισμών: της αιμόστασης, της φλεγμονώδους αντίδρασης, του πολλαπλασιασμού, της επιθηλιοποίησης και της επαναδιαμόρφωσης των ιστών. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η δημιουργία δέρματος λειτουργικά ισοδύναμου με αυτό προ της βλάβης, με αποκατάσταση της ακεραιότητας της επιδερμίδας και την πλήρη επαναλειτουργία των φραγμών του δέρματος. Ωστόσο, πολλές φορές η προσπάθεια επαναδιαμόρφωσης της βλάβης προς το υγιές δέρμα αποτυγχάνει στην προσπάθεια για γρήγορη σύγκλιση του έλκους, ακόμη και σε υγιή

άτομα. Σε αυτή την περίπτωση, το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία ινώδους ιστού και ουλής, ο οποίος, όμως, δεν διαθέτει τις απαραίτητες μηχανικές ιδιότητες για τη σταθεροποίηση των ιστών γύρω από τη βλάβη⁵.

Συνεπώς η πλήρης αποκατάσταση του χρόνιου μη επουλούμενου διαβητικού έλκους σε υγιές δέρμα και η διατήρησή του αποτελεί μία από τις σύγχρονες ιατρικές προκλήσεις.

Χαρακτηριστικά να αναφερθεί ότι κάθε χρόνο ξοδεύονται γύρω στα \$20 δισ. ετησίως στη διεθνή αγορά για την παραγωγή προϊόντων, τα οποία προάγουν την πλήρη επούλωση χρόνιων μη επουλούμενων ελκών και τη μη δημιουργία ουλώδους ιστού⁶.

Θεραπευτικοί τρόποι αντιμετώπισης, οι οποίοι συμβάλλουν στη γρηγορότερη και πλήρη επούλωση του έλκους, μπορούν να οδηγήσουν στην αποφυγή του ακρωτηριασμού του άκρου και στη μείωση της θνητότητας.

Τα τελευταία χρόνια έχει χρησιμοποιηθεί για την επούλωση των χρόνιων διαβητικών ελκών πληθώρα αυξητικών παραγόντων και διαφόρων τύπων βλαστοκυττάρων. Ωστόσο τα καλύτερα αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί με τη χρήση μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό⁶.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης των μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό στην επούλωση ενός χρόνιου μη επουλούμενου νευροπαθητικού έλκους πέλματος.

Περιγραφή περίπτωσης

Ασθενής γυναίκα με Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) τύπου 1 (ινσουλινοεξαρτώμενο), ηλικίας 47 ετών, με διάρκεια ΣΔ 24 χρόνια, προσήλθε για πρώτη φορά στο Διαβητολογικό Εξωτερικό Ιατρείο της Α΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του ΠΓΝ Θεσσαλονίκης «ΑΧΕΠΑ» πριν από 5 χρόνια με ένα χρόνια μη επουλούμενο έλκος στην πελματιαία επιφάνεια της κεφαλής του δεύτερου μεταταρσίου οστού του δεξιού άκρου ποδός (Εικόνα 1). Τα χαρακτηριστικά της ασθενούς φαίνονται στον πίνακα 1. Η ασθενής παρουσίαζε τις ακόλουθες διαβητικές μικροαγγειοπαθητικές επιπλοκές: αμφιβλ/θεια (είχε υποβληθεί σε Laser φωτοπηξία), νεφροπάθεια (μικρολευκωματουρία) και σοβαρή νευροπάθεια του περιφερικού [έλεγχος ορίου αντίληψης δονήσεων με βιοθεσιόμετρο >50 volts άμφω (ουσιαστικά



Εικόνα 1. Προ θεραπείας με βλαστικά κύτταρα.

Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά ασθενούς

Ηλικία	47 ετών
Βάρος Σώματος	57 Kg
Ύψος	166 cm
Φύλο	θήλυ
Κάπνισμα (ΝΑΙ/ΟΧΙ)	ΟΧΙ
Διάρκεια ΣΔ	24 έτη
HbA1c	6,5% (κ.φ. <6,0%)
Λευκά Αιμοσφαίρια	6,05 K/dl
HT	30,5%
Κρεατινίνη ορού	0,88 mg/dl

πλήρως αναίσθητο), απουσία αχίλλειων αντανάκλαστικών] και του αυτονόμου νευρικού συστήματος [όλες οι Καρδιαγγειακές Ανακλαστικές Δοκιμασίες παθολογικές: Δείκτης Εκπνοής/Εισπνοής=1,03 (ΦΤ>1,20), Δείκτης Valsalva=1,15 (ΦΤ>1,21) Δείκτης 30:15= 1,01 (ΦΤ>1,06) και ορθοστατική υπόταση=30 mmHg). Ο έλεγχος των αγγείων τόσο κλινικά όσο και με triplex αγγείων υπήρξε φυσιολογικός. Το έλκος είχε παρουσιασθεί προ διετίας και παρέμεινε μη επουλούμενο για όλο αυτό το χρονικό διάστημα. Κατά την κλινική εξέταση της ασθενούς τέθηκε η υπόνοια οστεομυελίτιδας και για τον λόγο αυτό υποβλήθηκε σε ακτινολογικό έλεγχο και μαγνητική τομογραφία από την οποία και διαπιστώθηκε η ύπαρξη οστεομυελίτιδας στην περιοχή που προαναφέρθηκε. Στη συνέχεια η ασθενής έλαβε θεραπευτική αγωγή με αντιβιοτικά ενδοφλεβίως: κλινδαμυκίνη 600 mg×3, σιπροφλοξασίνη 500 mg×2, για 10 ημέρες, στη συνέχεια από του στόματος κλινδαμυκίνη 300 mg×3, σιπροφλοξασίνη 500 mg×2, για έναν μήνα και στη συνέχεια για χρονικό διάστημα 5 μηνών από του στόματος κλινδαμυκίνη 300 mg×3. Στο τέλος της θεραπείας πραγματοποιήθηκε σπινθηρογράφημα με επισημασμένα λευκά αιμοσφαίρια, το οποίο υπήρξε φυσιολογικό. Η τεχνική του σπινθηρογραφήματος με αυτόλογα, επισημασμένα με ^{99m}Tc -HMPAO, λευκά αιμοσφαίρια συνοπτικά περιγραφόμενη, ήταν η ακόλουθη⁷: μετά τη λήψη 50 ml φλεβικού αίματος

ακολούθησε ο διαχωρισμός και η επισήμανση των λευκών αιμοσφαιρίων με ^{99m}Tc -HMPAO και η επαναχορήγησή τους στην ασθενή 90 λεπτά αργότερα. Η αποτελεσματικότητα της σημάνευσης (labelling efficiency) ήταν 70%, ενώ η ενεθείσα ενεργότητα ήταν 7 mCi. Πριν την απεικόνιση έγινε αλλαγή των γαζών που επικάλυπταν το έλκος ώστε να αποκλειστεί πιθανή ψευδής εντόπιση των ευρημάτων λόγω συγκέντρωσης ραδιοεπισημασμένων λευκών αιμοσφαιρίων στα εκκρίματα των γαζών. Λήφθηκαν στατικές εικόνες των άκρων ποδιών, 4 ώρες μετά την επαναχορήγηση των επισημασμένων λευκών αιμοσφαιρίων, σε πολλαπλές θέσεις (ραχιαία, πελματιαία, έσω και έξω επιφάνειες). Στην περιοχή του έλκους όμως παρά την ίαση από την οστεομυελίτιδα, δεν παρατηρούνταν σημεία επούλωσης για ένα χρονικό διάστημα 6 μηνών ακόμα, παρά τις επίμονες προσπάθειες (σχολαστικός καθαρισμός του έλκους σε τακτική βάση, αποφόρτιση και αφαίρεση του τυλώδους ιστού) για σύγκλιση του έλκους. Ο μεταβολικός έλεγχος καθ' όλη τη διάρκεια παρακολούθησης των 6 μηνών υπήρξε πολύ καλός με τιμές HbA1c από 6,5% έως 7,0%. Επειδή, η επαναμείωση του έλκους και κατά συνέπεια και η κακή έκβαση ήταν πλέον πιθανή, παρά και τον πολύ καλό γλυκαιμικό έλεγχο, αποφασίστηκε η χορήγηση αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό μετά από κατάλληλη εργαστηριακή προετοιμασία.

Μέθοδος λήψης των βλαστοκυττάρων

Συγκεντρώθηκαν 60 ml κοιλιακού λίπους μετά από λιπεκτομή τα οποία πλύθηκαν με αποστειρωμένο ορό και τεμαχίστηκαν σε μικρά κομμάτια. Η λιπεκτομή πραγματοποιήθηκε από χειρουργό. Ακολούθως, προστέθηκαν 60 IU Κολλαγεννάσης τύπου 1 για ανθρώπινη χρήση (Worthington) σε 60 ml διαλύματος ringer lactate και το μείγμα επώασθηκε 54 λεπτά υπό ανάδευση στους 37°C^{8,9}. Το μείγμα αφέθηκε να ισορροπήσει και η διαλυγής κατώτερη σι-

βάδα συλλέχθηκε προσεκτικά με μία βελόνα Spinal. Έγινε φυγοκέντρηση 600×g για 10 min αρχικά, και στη συνέχεια άλλες δύο, η πρώτη με ginger lactate και η δεύτερη με φυσιολογικό ορό. Απομονώθηκαν συνολικά 2×10^6 κύτταρα, τα οποία αποτελούνταν από περίπου 50% μεσεγχυματικά κύτταρα (CD29, CD105, CD90, CD73 θετικά και CD34, CD45 αρνητικά). Το 20% του συγκεντρωθέντος κυτταρικού πληθυσμού αποτελούνταν από ώριμα ενδοθηλιακά (CD31 θετικά) και αιμοποιητικά (CD34 θετικά) κύτταρα. Το ίζημα αναδιαλύθηκε σε 3 ml πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (PRP). Το PRP παρασκευάστηκε από 50 ml φλεβικού αίματος, τα οποία συλλέχθηκαν σε αντιπηκτικό CDPA. Έγινε μία φυγοκέντρηση στα 300×g για 10 min και το υπερκείμενο πλάσμα ξαναφυγοκεντρήθηκε στα 1.000×g για 5 min. Αφαιρέθηκε το υπερκείμενο μέχρι να μείνουν 3 ml και τα αιμοπετάλια επανεναιωρήθηκαν. Το PRP τοποθετήθηκε στην κατάψυξη και αποψύχθηκε πριν τη χρήση. Η στείριση του δείγματος ελέγχθηκε με βακτηριολογικές δοκιμασίες για αερόβια και αναερόβια βακτηρίδια (Bactec Becton Dickinson). Χορηγήθηκαν $1,3 \times 10^6$ βιώσιμα κύτταρα, τα οποία περιείχονταν σε 4 ml αυτόλογου PRP.

Η χορήγηση των βλαστοκυττάρων έγινε τον Απρίλιο 2013. Τα κύτταρα ενέθηκαν στα χείλη και

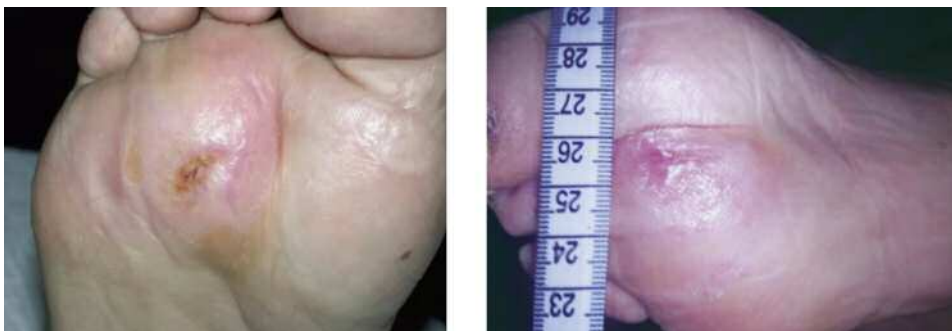
στο κέντρο της ελκώδους περιοχής (Εικόνα 1). Η έγχυση πραγματοποιήθηκε μία μόνο φορά. Έναν μήνα μετά από τη χορήγηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων στην περιοχή του έλκους παρατηρήθηκε πλήρης επούλωση του έλκους με φυσιολογική και όχι ουλώδη εμφάνιση του δέρματος, η οποία διατηρήθηκε για 4 χρόνια μετά τη χορήγηση.

Συζήτηση

Στην παρούσα εργασία ο πρωτεύων τελικός στόχος που ήταν η πλήρης επούλωση του έλκους με φυσιολογική και όχι ουλώδη εμφάνιση του δέρματος επιτεύχθηκε. Το έλκος υπήρξε μη επουλούμενο (Εικόνα 1) με τη συμβατική αντιμετώπιση (σχολαστικός καθαρισμός του έλκους σε τακτική βάση, αποφόρτιση και αφαίρεση του τυλώδους ιστού, αντιμετώπιση λοίμωξης και άριστος μεταβολικός έλεγχος) για συνολική χρονική διάρκεια δύο χρόνων. Να σημειωθεί ότι ο ακρωτηριασμός φαινόταν ως ιδιαίτερα πιθανός, αν συνέβαινε επαναμόλυνση του έλκους στη δεδομένη χρονική στιγμή. Η πλήρης επούλωση σε υγιές δέρμα (Εικόνες 2 και 3) επιτεύχθηκε σε χρονικό διάστημα ενός μηνός και διατηρήθηκε στη συνέχεια για 4 χρόνια παρακολούθησης. Η γρήγορη επούλωση μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο επαναμόλυνσης και συνέβαλε στην ομαλοποίηση και στη βελτίωση της ποιότητας ζωής της ασθενούς καθώς



Εικόνα 2. Μετά τη θεραπεία με βλαστικά κύτταρα.



Εικόνα 3. Μετά τη θεραπεία με βλαστικά κύτταρα.

ο φόβος ενός μελλοντικού ακρωτηριασμού αποφεύχθηκε.

Σε προηγούμενη εργασία μας είχαμε χορηγήσει τον ανασυνδυασμένο ανθρωπίνο παράγοντα που διεγείρει τον σχηματισμό αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (rhu GM-CSF) και ο οποίος έχει μελετηθεί ως αιμοποιητικός αυξητικός παράγοντας. Λόγω της πλειότροπης εξω-αιμοποιητικής δράσης του σε διάφορα είδη κυττάρων και ιστών, δοκιμάστηκε και στην επούλωση δυσία των ελκών. Ωστόσο με τη χρήση του παράγοντα παρατηρήθηκε επούλωση του διαβητικού έλκους μετά από ένα έτος και με τον σχηματισμό ουλώδους ιστού και όχι υγιούς δέρματος⁷.

Η αποκατάσταση μίας εξωγενώς προκληθείσας βλάβης των μαλακών ιστών, ως γνωστόν, αρχίζει αμέσως μετά τον τραυματισμό με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των μηχανισμών αιμόστασης καθώς και με τη συγκέντρωση κοκκιοκυττάρων. Για την περαιτέρω φυσιολογική πλήρη επούλωση του έλκους απαιτούνται σύνθετες διεργασίες, συνέργεια καθώς και συγχρονισμός μεταξύ του συνδετικού ιστού (σχηματισμός), της τοπικής συγκέντρωσης και του πολλαπλασιασμού διαφόρων κυττάρων και της παραγωγής και ενεργοποίησης διαφόρων αυξητικών παραγόντων. Και οι τρεις αυτοί μηχανισμοί, έχει παρατηρηθεί ότι είναι διαταραγμένοι στον ΣΔ και μπορούν να επηρεάσουν την ομαλή σύγκλιση του έλκους.

Κατ' αρχάς ο πτωχός μεταβολικός έλεγχος έχει ως συνέπεια την αύξηση της Hb1c, η οποία οδηγεί σε ιστική υποξυγοναιμία λόγω τροποποίησης της καμπύλης απόδοσης του οξυγόνου στους ιστούς. Ταυτόχρονα, η διαβητική νευροπάθεια έχει οδηγήσει σε διάνοιξη των αρτηριοφλεβικών αναστομώνσεων με αποτέλεσμα το άκρο να είναι θερμό, εξέρυθρο και ελαφρά οιδηματώδες και η τροφοδοσία των εν τω βάθει ιστών να έχει μειωθεί σημαντικά. Η υπεργλυκαιμία προκαλεί μείωση της χημειοταξίας των λευκών αιμοσφαιρίων και κατά συνέπεια χειρότερη αντιμετώπιση της λοίμωξης^{10,11}.

Επιπλέον, η σύνθεση του κολλαγόνου και η παραγωγή κερατινοκυττάρων του δέρματος είναι αρκετά μειωμένες στον ΣΔ. Κατά συνέπεια κατά τη διάρκεια αυτής της καθυστέρησης στην επούλωση, συμβαίνει αναστολή της ανάπτυξης της επιδερμίδας και της σύγκλισης των χειλέων του έλκους^{12,13}. Όλοι οι πιθανοί μηχανισμοί, οι οποίοι οδηγούν στη μη επούλωση του έλκους φαίνονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Παράγοντες που επηρεάζουν την επούλωση του διαβητικού έλκους

Συστηματικοί παράγοντες	Τοπικοί παράγοντες
Υπεργλυκαιμία	Ισχαμία και υποξία
Παχυσαρκία	Νευροπάθεια (αισθητικοκινητική και του αυτονόμου ΝΣ)
Κάπνισμα	Ύπαρξη πίεσης στο σημείο της βλάβης
Ανααιμία	Επαναλαμβανόμενοι τραυματισμοί
XNA	Ύπαρξη ξένου σώματος
Ηλικία	Ύπαρξη οιδήματος
Φάρμακα	Νέκρωση
Αλκοόλ	Φλεγμονή-διαπύηση-αιματώματα
Κακή θρέψη	Μη επαρκής τοπική θεραπεία
	Έκταση έλκους (διάμετρος-βάθος-συμμετέχοντες ιστοί)
	Διάρκεια του έλκους

Συνέπεια όλων των ανωτέρω είναι να παραμένει το έλκος στη φλεγμονώδη φάση επούλωσης.

Σύγχρονες θεραπευτικές παρεμβάσεις, με τις οποίες θα επιτυγχάνεται πλήρης επούλωση και χωρίς τη δημιουργία ουλώδους ιστού, των χρόνιων μη επουλούμενων ελκών προς το παρόν δεν υπάρχουν. Η χορήγηση αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό φαίνεται να είναι μία πολλά υποσχόμενη και αποτελεσματική τεχνική στην επούλωση αυτών των ελκών. Η μοναδική και περισσότερο χαρακτηριστική ιδιότητά τους είναι η ικανότητα διαφοροποίησής τους σε λιποκύτταρα, χονδροβλάστες και οστεοβλάστες *in vitro*. Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί ότι μπορούν να διαφοροποιηθούν σε επιδερμικά και νευρικά κύτταρα *in vitro*. Ωστόσο, αυτές οι ιδιότητες πρέπει να επιβεβαιωθούν και *in vivo*. Επίσης, η χαμηλή αντιγονικότητα και ο ολοκληρωτικός ρόλος τους στη φυσιολογική αποκατάσταση των ελκών, τα έχει καταστήσει μία αρκετά ελκυστική θεραπευτική επιλογή. Τα αυτόλογα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ληφθέντα από τον λιπώδη ιστό προάγουν τη μετανάστευση των κυττάρων, την αγγειογένεση, την επιθηλιοποίηση και τον σχηματισμό κοκκιωματώδους ιστού^{6,14,15}. Οι ιδιότητες αυτές συμβάλλουν στην επιτάχυνση της σύγκλισης του έλκους. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται περισσότερο ένα περιβάλλον αναγέννησης των ιστών παρά ένα περιβάλλον, το οποίο θα οδηγήσει σε δημιουργία ινώδους-ουλώδους ιστού⁶.

Το PRP έχει επίσης χρησιμοποιηθεί στη θερα-

πεντική αντιμετώπιση των διαβητικών ελκών, επειδή παρουσιάζει υψηλή περιεκτικότητα σε αυξητικούς παράγοντες και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες¹⁶.

Στην παρούσα περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ο συνδυασμός των αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό με PRP, επειδή υπήρξε άμεσα διαθέσιμος, αποστειρωμένος και με χαμηλή αντιγονικότητα¹⁷.

Η θεραπεία της οστεομυελίτιδας, για την οποία ελέγχθηκε επισταμένως η ασθενής, πιθανόν να αποτελεί μία ακόμη αιτία της καλής έκβασης του περιστατικού. Σε ανάλογα περιστατικά, όταν συνυπήρχε οστεομυελίτιδα, η θεραπεία δεν παρουσίασε ιδιαίτερα επωφελή αποτελέσματα¹⁷.

Από τη διεθνή βιβλιογραφία δεν έχει διευκρινισθεί ποια απεικονιστική μέθοδος είναι περισσότερο κατάλληλη για τη διάγνωση της οστεομυελίτιδας: η μαγνητική τομογραφία ή το σπινθηρογράφημα με επισημασμένα λευκά. Η μαγνητική τομογραφία (MRI) θεωρείται ως η πλέον ειδική και ευαίσθητη μέθοδος για τη διάγνωση της οστεομυελίτιδας, ιδιαίτερα αν αυτή εντοπίζεται στο πρόσθιο τμήμα του ποδιού. Εντοπίζει γρήγορα το οίδημα μυελού (εύρημα ύπαρξης οστεομυελίτιδας), τυχόν αποστήματα και το μέγεθός τους και περιγράφει λεπτομερώς την έκταση της λοίμωξης¹⁸⁻²¹. Ωστόσο, σε περιπτώσεις ύπαρξης λοίμωξης στο μέσο/οπίσθιο τμήμα του ποδιού, η μαγνητική τομογραφία έχει περιορισμένες δυνατότητες καθώς δεν μπορεί να καθορίσει το οίδημα του μυελού αν αυτό οφείλεται σε οστεομυελίτιδα ή σε οξεία αρθροπάθεια Charcot²²⁻²⁶. Επιπρόσθετα, με το MRI δεν μπορεί να καθορισθεί αν η θεραπεία της οστεομυελίτιδας υπήρξε επιτυχής, επειδή οι απεικονίσεις δείχνουν ότι οι βλάβες παραμένουν για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε ασθενείς στους οποίους η οστεομυελίτιδα έχει ήδη επιτυχώς θεραπευθεί. Το σπινθηρογράφημα με επισημασμένα λευκά είναι η απεικονιστική μέθοδος εκλογής σχετικά με την επιτυχή ή μη θεραπεία της οστεομυελίτιδας. Τα επισημασμένα λευκά δεν συγκεντρώνονται σε οστικές βλάβες σε απουσία λοίμωξης. Κατά συνέπεια η επιτυχής θεραπευτική αντιμετώπιση της οστεομυελίτιδας μπορεί να επιβεβαιωθεί μόνο με τα επισημασμένα λευκά αιμοσφαίρια.

Επιπρόσθετα, ο πολύ καλός γλυκαιμικός έλεγχος (HbA1c μεταξύ 6,5 και 7,0%) καθ' όλη τη χρονική διάρκεια παρακολούθησης των δύο χρόνων πριν από την έγχυση των βλαστοκυττάρων αλλά και

η μετέπειτα εξέλιξη κατά τη διάρκεια των τεσσάρων χρόνων με τη μεταβολική ρύθμιση να παραμένει στα ίδια επίπεδα, να υπήρξε ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας, ο οποίος συνέβαλε στην πλήρη επούλωση και διατήρηση του αποτελέσματος. Όπως είναι γνωστό η υπεργλυκαιμία μειώνει τη χημειοταξία των λευκών αιμοσφαιρίων^{10,11}.

Η αναιμία της ασθενούς (φορέας μεσογειακής αναιμίας) πιθανόν να συνέβαλε στη μη επούλωση του έλκους καθώς είναι μία από τις αιτίες της χρονιότητας των ελκών.

Οι αυξητικοί παράγοντες φαίνεται να επηρεάζουν την ομαλή επούλωση διαμέσου ανασταλτικών ή διεγερτικών δράσεων στο τοπικό φλεγμονώδες περιβάλλον του έλκους. Αυξητικοί παράγοντες όπως αυτοί των αιμοπεταλίων, των ινοβλαστών και ο αυξητικός παράγον του ενδοθηλίου των αγγείων (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), έχουν βρεθεί στο υγρό τέτοιων ελκών. Οι παράγοντες αυτοί προκαλούν χημειοταξία, μετανάστευση, διέγερση και πολλαπλασιασμό των κυττάρων και των συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, διαδικασίες άκρως απαραίτητες για την ομαλή σύγκλειση του έλκους. Συνεπώς, η διαταραγμένη έκκριση ή και η απουσία αυτών των παραγόντων δυνατόν να έχει ως αποτέλεσμα τη μη επούλωση του έλκους. Στην επούλωση, όπως προκύπτει από τη βιβλιογραφία, συμβάλλουν οι ακόλουθοι αυξητικοί παράγοντες: Fibroblast growth factor (FGF2), Keratinocyte growth factor, (KGF), Epidermal growth factor (EGF), Transforming growth factor (TGF- β), VEGF, PDGF Platelet-derived growth factor, Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)²⁷.

Ωστόσο, στις περισσότερες από τις μελέτες με την χρήση αυξητικών παραγόντων η επούλωση του έλκους παρατηρήθηκε μετά από πολλές εβδομάδες (20 έως 36)²⁷, όπως και σε δική μας προηγούμενη εργασία (52 εβδομάδες)⁷.

Επίσης, και άλλοι τύποι βλαστοκυττάρων εκτός των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων έχουν χρησιμοποιηθεί για την επούλωση των διαβητικών ελκών όπως βλαστοκύτταρα από τον μυελό των οστών [Bone-marrow-derived mononuclear cells (BM-MNCs)], τα οποία όμως δεν έχουν δείξει τα ίδια καλά αποτελέσματα²⁷.

Πιθανόν, μελλοντικά ένας συνδυασμός χορήγησης αυξητικού παράγοντα και βλαστοκυττάρων να προσφέρει ακόμη καλύτερα αποτελέσματα στην επούλωση των χρόνιων διαβητικών ελκών. Επιπρό-

σθετα νέες κατηγορίες βλαστοκυττάρων, όπως τα induced Pluripotent Stem Cells (iPSC) και τα οποία προέρχονται από τα σωματικά βλαστοκύτταρα ενηλίκων, πιθανόν να προσφέρουν μελλοντικά περισσότερες λύσεις στην επούλωση των χρόνιων διαβητικών ελκών²⁸.

Συμπεράσματα

Στην παρούσα περίπτωση η τοπική εφαρμογή των αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό σε συνδυασμό με PRP στην περιοχή του μη επουλούμενου άτονου έλκους του πέλματος του διαβητικού ποδιού, παρά τη βραχεία περίοδο εφαρμογής, συνέβαλε σε θεαματική, ταχεία και πλήρη επούλωση του έλκους με ταυτόχρονη θεραπεία της φλεγμονής προς υγιές δέρμα.

Προϋπόθεση της εφαρμογής βλαστοκυττάρων υπήρξε ο αποκλεισμός της οστεομυελίτιδας, που επιτεύχθηκε με ραδιοϊσοτοπικές εξετάσεις. Η ορθή εφαρμογή στην επούλωση ελκών των αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων ληφθέντων από τον λιπώδη ιστό σε συνδυασμό με PRP δυνατόν να βοηθήσει στην αποφυγή ακρωτηριασμών μελλοντικά.

Abstract

Didangelos T, Koliakos G, Georga S, Kotzampassi K, Karamanos D, Kouzi-Koliakou K, Karlafti E, Tziomalos K, Arsos G, Hatzitolios AI. Complete healing of a non-healing diabetic foot ulcer within one month and persisting for four years using autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells: a case report. Hellenic Diabetol Chron 2019; 1: 40-47.

The aim of the present study was to investigate the efficacy of the adipocyte tissue-derived Stromal Vascular Fraction (SVF) and Platelet Rich Plasma in a non-healing diabetic ulcer.

Case presentation: A woman with Diabetes Mellitus (DM) type 1, aged 47 years old, with duration of DM 24 years, presented with a non-healing ulcer in the plantar surface of the right foot under the second metatarsal head. Osteomyelitis observed after the first visit of the patient in our outpatient clinic with Magnetic Resonance Imaging. The patient received treatment with antibiotics for six months and at the end of the treatment, the labelled white blood cells scan was normal. But, there was not evidence of closure of the ulcer for another six months, despite our efforts. So, we decided to apply autologous adipocyte tissue derived- SVFs to the site of the ulcer. A piece of

about 60 ml adipose tissue was collected by lipectomy performed by a surgeon from the abdominal subcutaneous area under local anesthesia. For the preparation of adipose tissue derived SVF and the method of collagenase digestion was applied. The cells were then rate controlled frozen and stored in liquid nitrogen until use. Before application the cells were rapidly defrozen at 40°C washed twice with PBS, and resuspended in 2 mL of the patient's serum. Injection of the SVFs in the ulcer site made in April 2013. After a month of the SVFs injection there was complete closure of the ulcer with normal dermal appearance. No side effects observed during the follow up period. After 4 years of follow up there is still complete healing of the ulcer.

In conclusion, administration of autologous adipocyte tissue derived- Stromal Vascular Fraction and Platelet Rich Plasma achieved complete healing of the diabetic refractory to other treatment ulcer and keeping the beneficial effect for 4 years. This intervention may be helpful for other same cases in future.

Βιβλιογραφία

1. *Διδάγγελος Τ, Καραμήτσος Δ.* Διαβητική νευροπάθεια σε: Δ. Καραμήτσος: Διαβητολογία: Θεωρία και Πρακτική στην αντιμετώπιση του σακχαρώδη διαβήτη, Θεσσαλονίκη, Ιατρικές Εκδόσεις Σιώκης, 2009: 255-307.
2. *Ahmad J.* The diabetic foot. *Diabetes Metab Syndr* 2016; 10: 48-60.
3. *Groop PH, Forsblom C, Thomas MC.* Mechanisms of disease: Pathway-selective insulin resistance and microvascular complications of diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2005; 1: 100-10.
4. *Dinh T, Tecilazich F, Kafanas A, et al.* Mechanisms Involved in the Development and Healing of Diabetic Foot Ulceration *Diabetes* 2012; 61: 2937-47.
5. *Clark R.* Wound repair overview and general considerations. In: R. Clark: *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair.* New York, NY: Plenum Press, 1996: 3-50.
6. *Hu SM, Mimi R, Borrelli RM, H. Peter Lorenz HP, Michael T, Longaker TM, Derrick C, Wan CD.* Mesenchymal Stromal Cells and Cutaneous Wound Healing: A Comprehensive Review of the Background, Role, and Therapeutic Potential. *Stem Cells International* 2018; doi: 10.1155/2018/6901983
7. *Didangelos T, Georga S, Arsos G, Rizopoulou D, Karakatsanis K, Karamitsos D.* Healing of chronic diabetic neuropathic ulcer with topical application of GM-CSF. *Hellen Diabetol Chron* 2006; 4: 313-9.
8. *Rodbell M, Jones AB.* Metabolism of isolated fat cells. 3. The similar inhibitory action of phospholipase C (*Clostridium perfringens* alpha toxin) and of insulin on lipolysis stimulated by lipolytic hormones and theophylline. *J Biol Chem* 1966; 241: 140-2.
9. *Tzouveleki A, Koliakos G, Ntoliou P, et al.* Stem cell therapy for idiopathic pulmonary fibrosis: a protocol proposal. *J Transl Med* 2011; 9: 182.
10. *Mowat A, Baum J.* Chemotaxis of polymorphonuclear

- leukocytes from patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1971; 284: 621-7.
11. *Delamaire M, Maugendre D, Moreno M, Le Goff MC, Allanic H, Genetet B.* Impaired leucocyte functions in diabetic patients. *Diabet Med* 1997; 14: 29-34.
 12. *Crisp AJ, Heathcote JG.* Connective tissue abnormalities in diabetes mellitus. *J R Coll Physicians Lond* 1984; 18: 132-41.
 13. *Spravchikov N, Sizyakov G, Gartsbein M, et al.* Glucose effects on skin keratinocytes. *Diabetes* 2001; 50: 1627-35.
 14. *Karri VV, Kuppusamy G, Talluri SV, Yamjala K, Manemala SS, Malayandi R.* Current and emerging therapies in the management of diabetic foot ulcers. *Cur Med Res Opin* 2016; 32: 519-42.
 15. *Kim KH, Blasco-Morente G, Cuende N, Arias-Santiago S.* Mesenchymal stromal cells: properties and role in management of cutaneous diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31, 414-23.
 16. *Martinez-Zapata MJ, Martí-Carvajal AJ, Solà I, Expósito JA, Bolibar I, Rodríguez L, Garcia J, Zaror C.* Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *Cochrane Database Syst Rev* 2016 doi: 10.1002/14651858.CD006899
 17. *Raposo E, Bertozzi N, Bonomini S, et al.* Adipose-derived stem cells added to platelet-rich plasma for chronic skin ulcer therapy. *Wounds* 2016; 28: 126-31.
 18. *Kapoor A, Page S, Lavalley M, Gale DR, Felson DT.* Magnetic resonance imaging for diagnosing foot osteomyelitis: a meta-analysis. *Arch Intern Med* 2007; 167: 125-32.
 19. *Sella EJ, Grosser DM.* Imaging modalities of the diabetic foot. *Clin Podiatr Med Surg* 2003; 20: 729-40.
 20. *Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, et al.* 2012 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 54: 132-73.
 21. *Tan T, Shaw EJ, Siddiqui F, Kandaswamy P, Barry PW, Baker M.* Inpatient management of diabetic foot problems: summary of NICE guidance; Guideline Development Group. *BMJ* 2011; 342: d1280.
 22. *Capriotti G, Chianelli M, Signore A.* Nuclear medicine imaging of diabetic foot infection: results of meta-analysis. *Nucl Med Commun* 2006; 27: 757-64.
 23. *Newman LG, Waller J, Palestro CJ, Schwartz M, Klein MJ, Hermann G, Harrington E, Harrington M, Roman SH, Stagnaro-Green A.* Unsuspected osteomyelitis in diabetic foot ulcers. Diagnosis and monitoring by leukocyte scanning with indium in 111 oxquinoline. *JAMA* 1991; 266: 1246-51.
 24. *Palestro CJ, Tomas MB.* Scintigraphic evaluation of the diabetic foot in LM Freeman: *Nuclear Medicine Annual* 2000, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000: 143-72.
 25. *Vouillarmet J, Morelec I, Thivolet C.* Assessing diabetic foot osteomyelitis remission with white blood cell SPECT/CT imaging. *Diabet Med* 2014; 31: 1093-9.
 26. *Devillers A, Moisan A, Hennion F, Garin E, Poirier JY, Bourguet P.* Contribution of technetium-99m hexamethyl propylene amine oxime labeled leukocyte scintigraphy to the diagnosis of diabetic foot infection. *Eur J Nucl Med* 1998; 25: 132-8.
 27. *Zarei F, Negahdari B, Eatemadi A.* Diabetic ulcer regeneration: stem cells, biomaterials, growth factors, Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology 2018; 46: 26-32.
 28. *Gorecka J, Kostiuk V, Fereydooni A, et al.* The potential and limitations of induced pluripotent stem cells to achieve wound healing *Stem Cell Research & Therapy* 2019; 10: 87.

Λέξεις-κλειδιά:

Διαβητική νευροπάθεια
 Διαβητικό έλκος ποδιού
 Βλαστοκύτταρα
 Οστεομυελίτιδα

Key-words:

Diabetic neuropathy
 Diabetic foot ulcer
 Stem cells
 Osteomyelitis