



Revisión

Células madre derivadas de músculo para la incontinencia urinaria de esfuerzo

Á.R. Proaño*, A. Medrano, G. Garrido y O. Mazza

División de Urología, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Argentina

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 7 de septiembre de 2009

Aceptado el 29 de septiembre de 2009

Palabras clave:

Células madre derivadas de músculo

Rabdoesfínter

Incontinencia urinaria de esfuerzo

Ultrasonido transuretral

R E S U M E N

El conocimiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo (IUE) se ha incrementado, dando como resultado una amplia gama de diferentes opciones terapéuticas disponibles. La uretra media y el esfínter uretral externo son ahora el eje en el manejo de la IUE. La terapia con células madre para la regeneración del esfínter deficiente ha sido motivo de investigaciones novedosas. Obteniendo mioblastos y fibroblastos autólogos de biopsias musculares esqueléticas, cultivándolas e implantándolas después de su diferenciación en el esfínter uretral externo se advierte un nuevo concepto en el tratamiento de la incontinencia de esfuerzo. En lugar de utilizar materiales heterólogos, tales como mallas sintéticas (slings) o sustancias de abultamiento (colágeno, siliconas, etc.), ahora tenemos el potencial para restaurar la función con el uso de células madre autólogas.

© 2009 AEU. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Muscle-derived stem cell therapy for stress urinary incontinence

A B S T R A C T

Keywords:

Muscle-derived stem cells

Rhabdosphincter

Urinary effort incontinence

Transurethral ultrasound

The knowledge of the urinary effort incontinence (UEI) has increased, giving like result an ample range of different therapeutic options available. The middle urethra and external urethral sphincter are the focus in management of UEI. Stem cells therapy for the regenerative repair of the deficient sphincter has been the leading research of incontinence. Obtaining autologous myoblasts and fibroblasts of skeletal muscle-biopsies, cultivating them and transplanting them after its differentiation, into the external urethral sphincter it warns a new concept in the treatment of the incontinence. Instead of using heterologous materials such as synthetic mesh (slings) or bulking agents (collagen, silicone, etc); we now have the potential to restore function with the use of autologous stem cells.

© 2009 AEU. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: soninonino@hotmail.com (Á.R. Proaño)

0210-4806/\$ - see front matter © 2009 AEU. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Introducción

Más de 200 millones de personas en todo el mundo padecen de incontinencia urinaria (IU)¹. La prevalencia reportada varía en diferentes estudios debido al uso de distintas definiciones y la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas. El estudio Noruego EPINCOT mostró una prevalencia de IU femenina del 15% en mujeres de 20 a 34 años y del 35% en mayores de 75 años, en estrecha relación con la edad y la paridad; siendo más frecuente la IU de esfuerzo (IUE) seguida por la IU mixta (IUM) y, en pequeño porcentaje, IU de urgencia (IUU)²⁻⁴. En un estudio poblacional longitudinal realizado en Suecia, sobre un total de 1.081 mujeres, la prevalencia se incrementó desde un 15% en 1991 a un 28% para el año 2007. En 1991 el 12% de todas las mujeres reportaron IUE y el 2% IUU, mientras que la distribución entre estos tipos en el 2007 fue del 19 y 12% respectivamente⁵.

Los factores de riesgo mejor estudiados para esta patología son la edad, los antecedentes obstétricos y la obesidad. Durante el parto la lesión de los músculos, del tejido conectivo y los nervios parecen ser los factores más importantes en relación con IUE e IUM, siendo más significativo el primer parto que cada uno de los siguientes^{2,6,7}.

La IUE puede ser agrupada en dos categorías: hipermovilidad uretral y deficiencia esfinteriana intrínseca (DEI). Ciertos datos experimentales evidenciados por Kamo et al, realizados en ratas hembras, sugieren que la uretra media y el esfínter uretral externo son críticos para mantener la continencia, y es el foco primario para el manejo de la IUE⁸. En humanos, con el avance de la edad, se produce una disminución progresiva de la densidad de células musculares estriadas en el rabdoesfínter. Esta pérdida continua debida a apoptosis puede llevar a IU, hallazgos que son el punto de partida para nuevos abordajes terapéuticos que ayuden a retrasar la apoptosis o a reemplazar células musculares en el rabdoesfínter (RS)⁹.

El tratamiento farmacológico de la IUE con el uso de agonistas alfa y beta-2 adrenérgicos no ha sido aprobado por la US Food and Drug Administration (FDA) ni por la European Agency for the Evaluation of Medical Products (EMEA)¹⁰. Duloxetina, inhibidor de la recaptación de serotonina y noradrenalina, no fue aprobado por la FDA¹¹; y el National Institute for Health and Clinical Excellence (NHS) lo menciona como segunda línea de tratamiento si la mujer prefiere terapia farmacológica, o no es candidata para el tratamiento quirúrgico¹²; sin embargo, este fármaco fue aprobado por la EMEA para el manejo inicial de la IUE en el 2004^{11,13}.

El entrenamiento de los músculos del piso pélvano, asociado o no a biofeedback, y la estimulación eléctrica pueden usarse como primera línea de tratamiento en IUE e IUM durante al menos tres meses, pero la eficacia debe sopesarse con los costes que acarrea¹⁴.

Los agentes de abultamiento inyectados por vía cistoscópica, incluyendo politetrafluoretileno, colágeno bovino, micro partículas de siliconas, micro esferas de carbón y condrocitos autólogos auriculares han tenido éxito a corto plazo en el tratamiento de la IUE¹⁵, aunque estos pueden causar inflamación crónica, respuesta de células gigantes a cuerpo extraño, absceso periuretral, erosión de la vejiga uri-

naria o de la uretra, obstrucción del tracto urinario bajo con retención urinaria, disfunción severa de vaciado, migración a órganos internos y embolismo pulmonar¹⁶. La inyección de grasa autóloga no ha mostrado diferencias subjetivas u objetivas comparada con placebo; adicionalmente puede causar efectos secundarios graves producto de la migración hacia órganos distantes¹⁷.

En la actualidad las tradicionales técnicas de Burch y el sling pubovaginal (SPV) con fascia autóloga para el manejo de IUE prácticamente han sido sustituidas por la cirugía con mallas sintéticas libres de tensión, convirtiéndose el TVT (tension-free vaginal tape) en el patrón oro para su manejo, con un 77% de éxito a los 11 años¹⁸. Para el manejo de IU por DEI femenina ha sido el TVT el que mejores resultados ha proporcionado, con tasas de éxito del 87% que puede disminuir al 55% a los 7 años de seguimiento, y sin diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la lesión vesical, urgencia de novo, disfunciones del vaciado, infección recurrente y erosión de la malla entre SPV, TVT y TOT (transopturator tape)¹⁹. Para la IUE masculina que persiste después de un año tras el manejo conservador (2-5%) también se han utilizado distintos tipos de slings con grado de recomendación B²⁰. Los de tipo reajustable ofrecen ciertas ventajas, como el sistema Argus y el regulador mecánico externo (REMEEEX), con tasas de éxito del 73% y 64,7% respectivamente; en este sentido, el sistema se coloca sin tensión y se ajusta, si es necesario, el día después de la cirugía con el paciente de pie y realizando los esfuerzos que le provocan la incontinencia, o incluso meses o años después de su implante, existiendo también la posibilidad de disminuir el exceso de tensión con anestesia local y sin complicaciones severas^{20,21}.

La terapia con células madre para la cura potencial de la deficiencia esfinteriana en IUE ha sido lo más reciente en investigación de la incontinencia. Los investigadores han intentado usar terapias basadas en células para regenerar la deficiencia muscular y del tejido conectivo que resulta en IUE. El objetivo de las terapias con células madre intenta reemplazar, reparar o acrecentar la función biológica de los órganos y tejidos dañados. Los dos tipos generales de células madre que son potencialmente útiles para el tratamiento son células madre embrionarias (ESC) y células madre adultas²².

Origen celular

Las terapias celulares y de ingeniería genética que se describen a menudo se basan en células madre multipotenciales autólogas, las descritas con más frecuencia son las células estromales de la médula ósea, y la terapia con células madre embrionarias, que a su vez tiene limitaciones éticas inherentes a su procuración desde tejidos fetales y problemas de histocompatibilidad. Sin embargo, a pesar de su potencialidad, la aplicación práctica en terapia celular depende de la habilidad para controlar su diferenciación en células musculares esqueléticas funcionales con alta eficiencia y pureza²³. Como una fuente alternativa de células madre autólogas, las células madre derivadas de músculo (CMDM)²⁴ y las células procesadas que derivan del tejido adiposo (CDA) tienen como ventaja

que pueden ser obtenidas fácilmente y en grandes cantidades bajo anestesia local^{25,26}.

Nivel de acción de las células madre

La alta prevalencia de IU entre los ancianos de ambos sexos puede ser interpretada como un síntoma de pobre incremento, y eventualmente de un fallo en la regeneración tisular en el esfínter vesicouretral. Strasser et al investigaron los cambios morfológicos y funcionales dependientes de la edad en el mecanismo esfinteriano, examinando la densidad celular uretral y del rabdoesfínter, y las características apoptóticas para examinar los cambios en estas estructuras durante el proceso de envejecimiento; mediante la técnica TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick end-labeling) para determinar índices de apoptosis celular, se encontró una correlación directa entre la edad y la disminución en el volumen y la densidad de las células musculares estriadas; en el neonato el 87,6%, y en la mujer de 92 años de edad el 34,2% del rabdoesfínter estuvo compuesto de células estriadas²⁷.

En aquel estudio no se diferenció pacientes incontinentes de los continentes, asumiendo que todos tenían competencia esfinteriana; en los últimos años se han hecho grandes esfuerzos para investigar las bases morfológicas y funcionales de la IUE, y no ha sido muy difícil evaluar directamente el esfínter uretral y la estructura muscular principal de la uretra membranosa, ya sea por medios de imagen o pruebas urodinámicas. Con la ultrasonografía transuretral convencional y tridimensional se ha hallado que el rabdoesfínter es la estructura clave en el mecanismo de cierre uretral, mediante su visualización directa y determinación de la contractilidad, que puede ser llevada a cabo sin problemas ni complicaciones²⁸; la contractilidad del rabdoesfínter mostró una fuerte correlación con el grado de incontinencia y los síntomas clínicos^{29,30}.

Además de la historia clínica del paciente y de los estudios urodinámicos, las distintas técnicas ecográficas constituyen una herramienta útil para el diagnóstico de incontinencia, particularmente porque las técnicas de imagen convencionales proveen poca información del esfínter en sí mismo. Las mujeres continentes muestran un grosor músculo-estriado de 3,5 mm y una contractilidad de 1,8 mm; para mujeres con IUE grado I el grosor es de 3,2 mm del esfínter, con una contractilidad de 1,6 mm²⁹, mientras que en la evaluación contráctil

en hombres continentes es de 1,42 mm y en incontinentes de 0,59 mm, con un valor de 0,82 mm en pacientes con IUE grado I³⁰. Esta visualización directa del esfínter uretral externo y la evaluación de la contractilidad ofrecen nuevos datos para el manejo de la IUE²⁹.

Digesu G et al, mediante el uso de ecografía 3D, comprobaron que las mujeres con IUE recurrente tenían un volumen de esfínter uretral significativamente más pequeño que quienes tuvieron una cura objetiva (tabla 1), no encontrando diferencias significativas entre las mujeres con IUE primaria o secundaria. Esta es una ayuda diagnóstica más útil que las tradicionales medidas de función uretral, como la presión máxima de cierre uretral (PMCU)³¹.

Por otro lado, la resonancia magnética en el diagnóstico primario de IUE ha ido en aumento en los últimos años en pacientes en los que no se han encontrado signos de laxitud del suelo pélvico, ya que la DEI parece ser la responsable de los síntomas. Hay algunos hallazgos de imagen que están más comúnmente asociados con DEI, tales como uretra corta, adelgazamiento del músculo uretral o debilidad del cuello vesical; la longitud media de la uretra en pacientes continentes es de 3,8 cm. Cuando la uretra es más corta de 3 cm, o cuando el segmento uretral por encima del nivel del suelo pélvico es menos de 3 cm de longitud, el debilitamiento del esfínter uretral puede llevar a IUE³².

Aislamiento de células madre derivadas de músculo en humanos

Mitterberger M et al (2008) y Strasser H et al (2007) describen la biopsia en la extremidad superior derecha o izquierda (músculo bíceps) para obtener entre 0,3 a 2 cm³ de tejido muscular, y simultáneamente se obtienen 250 cc de sangre para suero autólogo^{33,34}. Los mioblastos y fibroblastos se separan del tejido conectivo mediante procesos de centrifugado y digestión enzimática con collagenasa tipo I, los mioblastos se cultivan en medio F10 de Ham suplementado con un 20% de suero autólogo y los fibroblastos en medio DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium) y F12 de Ham con un 10% de suero autólogo. Las células son aceptadas cuando alcanzan el 80% de confluencia. Despues de 6-8 semanas en cultivo, fibroblastos y mioblastos se cosechan separadamente por tripsinización y lavado con centrifugación³⁴.

La calidad celular se evalúa mediante inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y un tipo de fluorescencia celular

Tabla 1.- Medida con ecografía 3D del volumen esfinteriano uretral en mujeres continentes e incontinentes postoperatoriamente

| Resultado postoperatorio | | | |
|--|-------------|-----------|---------|
| Continente, n = 74 | IUE, n = 17 | Valor - p | |
| Volumen esfintérico total (cm ³) | 4,23 | 1,94 | < 0,001 |
| Volumen del rabdoesfínter (cm ³) | 3,75 | 1,09 | < 0,001 |
| Área seccional de corte (cm ²) | 2,57 | 2,05 | 0,007 |

IUE: incontinencia urinaria de esfuerzo. Tomada de Digesu G, et al³¹.

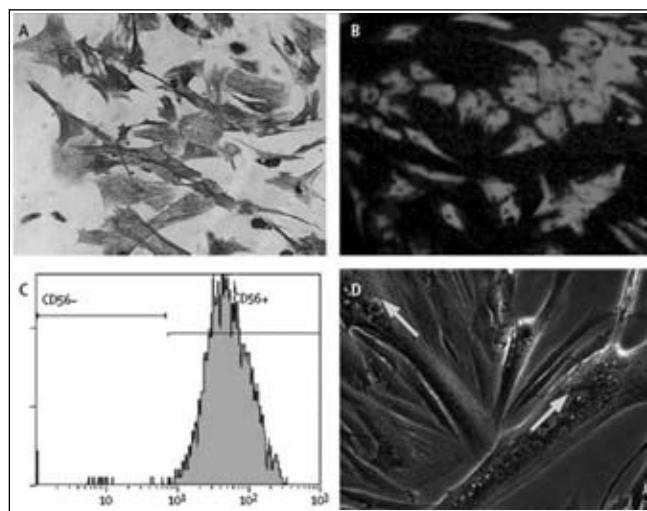


Figura 1 – Caracterización celular. (A) Inmunohistoquímica de mioblastos teñidos con anticuerpos anti-desmina. (B) Inmunofluorescencia de fibroblastos teñidos con anticuerpos anti-vimentina. (C) Análisis de mioblastos con anticuerpo fluorescente celular mostrando que el 97% de estos son positivos para anticuerpos CD56. (D) Miotubos multinucleados (marcados con flechas) que se han formado después de la fusión de mioblastos mononucleados en un medio de diferenciación. Tomada de Strasser H, et al³⁴.

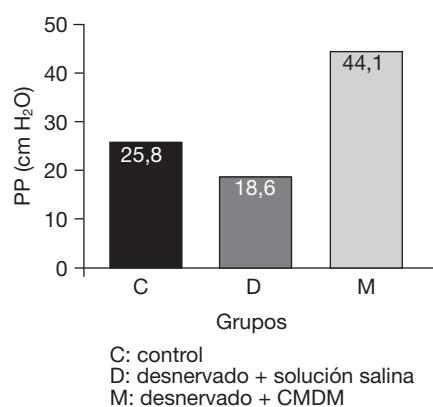


Figura 2 – Células madre alogénicas derivadas de músculo, que mejoran significativamente la presión de pérdida (PP) en animales con sección del nervio ciático a las 4 semanas de la inyección. CMDM: células madre derivadas de músculo. Tomada de Lee J, et al³⁵.

activada. Anticuerpos anti-desmina, vimentina, CD56, CD34, ASO2 son usados para diferenciar mioblastos de fibroblastos. La capacidad de fusión de los mioblastos se mide en medio de diferenciación sin suero autólogo, para evaluar su viabilidad, y el número de células son contadas en cada cultivo con la cámara de Neubauer (fig. 1)³⁴.

Una vez que las células son “cosechadas” se transfiere el número apropiado de las mismas a jeringuillas estériles, separando mioblastos de fibroblastos; los mioblastos se suspenden en 1,4 ml de DMEM/F12 con un 20% de suero autólogo,

y los fibroblastos en 1 ml de DMEM/F12, con un 20% de suero autólogo mezclados con 2,5 ml de colágeno como material de transporte para prevenir la migración de las células desde el sitio de la inyección, dado que los fibroblastos son móviles tras la aplicación. El colágeno ha mostrado estabilizar las células, de modo que permanezcan en el sitio y produzcan su propia matriz extracelular³⁴.

Resultados experimentales

Los datos obtenidos en la actualidad mediante las distintas técnicas de imagen han sugerido que la presión de cierre uretral se da predominantemente por el rabdoesfíner, para lo que se han creado distintos modelos de IUE en ratas mediante la denervación del complejo uretro- esfinteriano y así estudiar diferentes parámetros urodinámicos funcionales y estructurales.

Mediante la técnica de preplating Lee J et al aislan dos tipos de células: las *early preplate* (EP), que muestran características similares a los mioblastos convencionales maduros, y las *late preplate* (LP), morfológicamente distintas de las EP expresando marcadores miogénicos (desmina) y de células madre (CD34), llamándolas células madre derivadas de músculo (CMDM) usadas para los estudios. Los autores inyectan células EP y CMDM en la pared vesical del modelo animal para evaluar la inmunogenicidad, monitorizando la presencia de linfocitos CD8 dos semanas después de la inyección, y demostrando que solamente las células EP desencadenaron respuesta inmune en el huésped. En cuanto a los parámetros urodinámicos evalúan la presión de pérdida (PP); a las 4 semanas de la denervación ciática la PP en las ratas inyectadas con CMDM fue significativamente más alta que en aquellas con denervación ciática e inyección de solución salina, no encontrando diferencias significativas entre la primera y la cuarta semana en el grupo tratado con transferencia celular. Concluyen que la elevación de la PP puede ser secundaria a un efecto de abultamiento del tejido periuretral, ya que las células transplantadas formaron nuevas miofibrillas (fig. 2)³⁵.

Comparando la inyección de colágeno bovino con transferencia de CMDM y grupo control, a las 4 y 12 semanas la PP y la presión de cierre (PC) fueron más bajas en el grupo de ratas denervadas que en el grupo normal, y ambos parámetros en el grupo que recibió colágeno bovino mostraron una tendencia a disminuir, comparado también con el grupo normal. A su vez la PP y la PC del grupo que recibió CMDM fueron tan altas como el grupo normal (fig. 3)³⁶.

Chancellor M et al evaluaron también el efecto de las CMDM sobre la contractilidad del esfínter uretral. La denervación uretral resultó en una marcada atrofia y disminución de la máxima amplitud de contracción muscular fina rápida, valorada mediante estimulación con campo eléctrico, en comparación con el grupo control y el grupo al que se inyectaron CMDM. Las tinciones de inmunohistoquímica mostraron disminución de miotubos después de la denervación, y fueron positivas para cadenas pesadas de miosina en el grupo control y en el que recibió CMDM; a su vez, la tinción para linfocitos CD4 activados mostró una mínima infiltración en los sitios de inyección

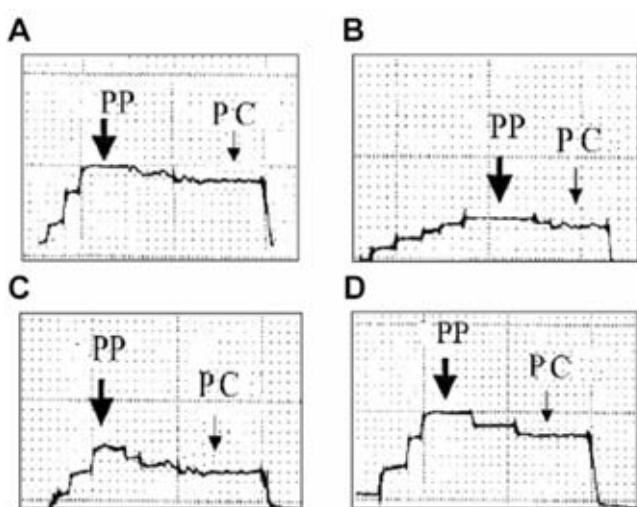


Figura 3 – Datos poligráficos de la presión de pérdida (PP) y presión de cierre (PC) a las 12 semanas. (A) Grupo normal. (B) Grupo desnervado. (C) Grupo desnervado más inyección de colágeno. (D) Grupo desnervado más inyección de células madre derivadas de músculo. Tomada de Lee J, Paik S, Yuk S, et al³⁶.

celular, y al mejorar la contractilidad de la uretra desnervada se puede sugerir que se produce un proceso de reinervación tisular³⁷.

Lee J et al y Chermansky CJ et al determinan la integración en los tejidos del huésped mediante tinción de hematoxilina-eosina, inmunohistoquímica para cadena pesada de miosina y un producto genético antiproteína (PGP 9.5) que tiñe nervios, denotando integridad de la capa muscular estriada esfinteriana después de la inyección de CMDM que a los grupos a los que se inyecta sólo solución salina o colágeno bovino, o mediante la tinción LacZ identificar las células en el sitio de la inyección, que previamente son marcadas para expresar beta-galactosidasa (fig. 4 y fig. 5)^{36,38}, a su vez al inyectar CMDM

Mittenberger et al, en un trabajo realizado en cerdos a los que se les inyectó, mediante ecografía transuretral, CMDM a distinta cantidad, observaron un incremento en los valores de la máxima presión de cierre uretral en un 350% en los sitios de inyección después de la aplicación de un recuento celular más alto. Estos resultados sugieren que el número de CMDM necesario para reconstruir el componente esfinteriano puede variar en varios miles, dependiendo del método usado para preparar las células³⁹.

Adicionalmente no se han encontrado signos de inflamación, infección o fibrosis, y se ha podido detectar la supervivencia celular con incremento en su número. Estas células formadas mostraron su disposición a lo largo de todo el rabdoesfínter y no formaron tejido de abultamiento que comprimiese u obstruyese la luz uretral³⁹.

Resultados de estudios clínicos

La persistencia de las CMDM, comparada con el colágeno, así como las respuestas funcionales y estructurales sobre el

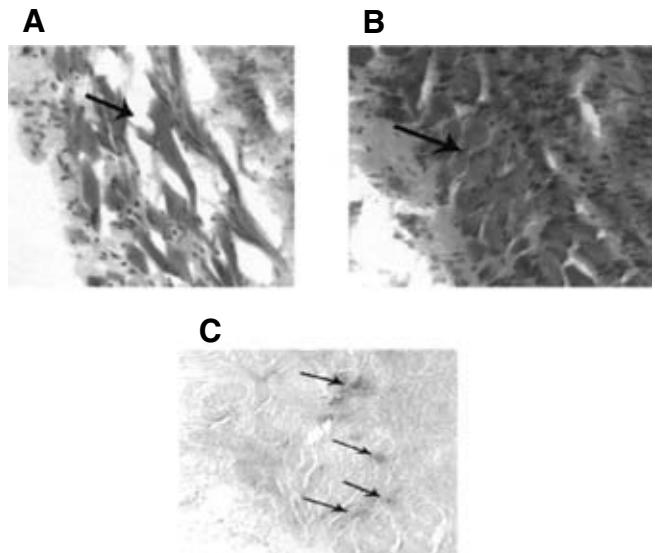


Figura 4 – Hallazgos histológicos en la uretra media cauterizada 4 semanas después de la inyección de solución salina o células madre derivadas de músculo. (A) Tinción hematoxilina-eosina de uretra inyectada con solución salina que muestra la capa muscular estriada discontinua. (B) Tinción hematoxilina-eosina de uretra inyectada con células madre derivadas de músculo (CMDM), la flecha muestra la capa muscular estriada intacta. (C) Tinción LacZ las flechas muestran las CMDM expresando beta-galactosidasa, situadas dentro de la capa muscular estriada de la uretra. Fotografías a 400x. Tomada de Chermansky et al³⁸.

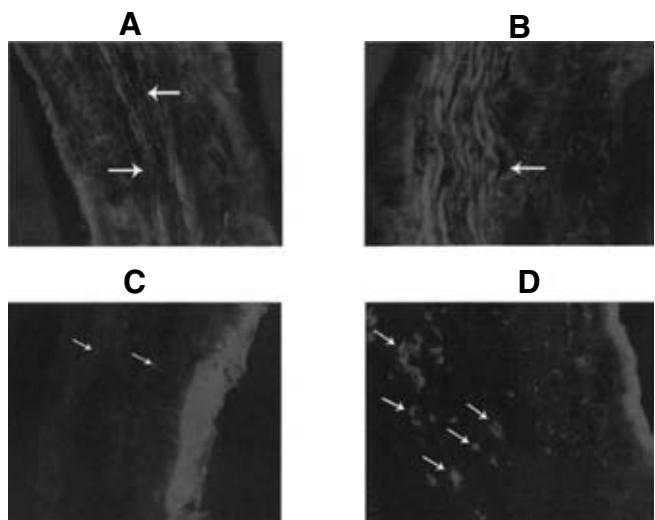


Figura 5 - Diferencias en la capa muscular estriada e innervación de la uretra media cauterizada 4 semanas después de la inyección de solución salina o células madre derivadas de músculo (CMDM). (A) Tinción de cadena pesada de miosina en uretra inyectada con solución salina que muestra la capa muscular estriada discontinua. (B) Tinción de cadena pesada de miosina en uretra inyectada con CMDM que muestra la capa muscular estriada intacta. (C) Tinción PGP 9.5 en uretra inyectada con solución salina que muestra pocas fibras nerviosas. (D) Tinción PGP 9.5 en uretra inyectada con CMDM que muestra muchas fibras nerviosas. Tomada de Chermansky CJ, et al³⁸.

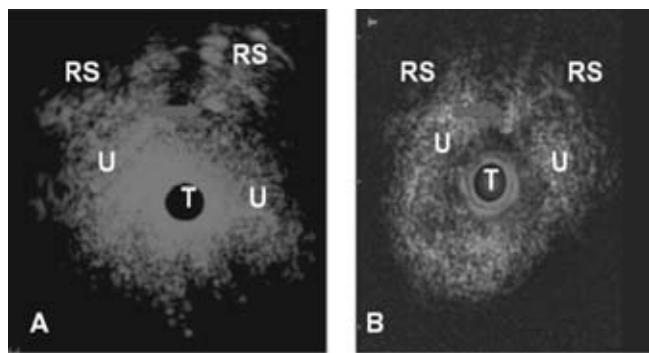


Figura 6 - Inyección de mioblastos (A) y fibroblastos (B) mediante ecografía transuretral. (A) Depósito de mioblastos (flecha) en el borde interno del rabdoesfínter, que es atrófico, y patrón ecográfico irregular. (B) Depósito de fibroblastos (flecha) inyectado en la submucosa uretral. RS: rabdoesfínter; T: transductor ecográfico; U: uretra. Tomada de Mitterberger M, et al⁴⁰.

músculo estriado en la uretra, justifican el uso de esta terapia para el manejo de la IUE³⁸.

El paciente es tanto donante como receptor de sus propias células, siendo el sitio de donación e implantación diferentes. Este material celular propagado puede ser denominado como una donación autóloga, heterotópica y dirigida.

Antes de la transferencia se toman biopsias de músculo para obtener cultivos de mioblastos y fibroblastos autólogos; los mioblastos son inyectados en el rabdoesfínter para reconstruir el defecto y mejorar la función muscular y los fibroblastos son mezclados con 2,5 ml de colágeno como material de transporte antes de la inyección en la submucosa uretral para tratar la atrofia de la misma³³.

Uso de células madre derivadas de músculo en la incontinencia urinaria de esfuerzo femenina

Las pacientes con IUE debida a DEI que no responden a la terapia convencional se someten a la inyección de CMDM bajo guía ecográfica transuretral, mediante un dispositivo diseñado especialmente para el procedimiento. En primer lugar 15-18 porciones (50-100 ul/depósito) de suspensión

de mioblastos se inyectan directamente en el rabdoesfínter y 25-30 porciones (50-100 ul/depósito) de suspensión de fibroblastos/collágeno se inyectan circunferencialmente en la submucosa (fig. 6). Tras la implantación las pacientes son instruidas para realizar ejercicios del piso pélvico durante 12 semanas y estimulación eléctrica transvaginal durante otras 4 para promover la integración celular y mejorar la formación de nuevo tejido muscular^{33,34,40}.

En el estudio de Mitterberger M et al, después de un año de seguimiento en 123 mujeres, el 79% fueron completamente continentas y no necesitaron usar pañales absorbentes durante su vida diaria, el 13% tuvieron una mejoría sustancial y el 8% una leve mejoría. Las puntuaciones de incontinencia, calidad de vida (I-QOL), el grosor, la contractilidad y la actividad electromiográfica del rabdoesfínter mejoraron significativamente después del tratamiento⁴⁰.

El mismo grupo en otro trabajo con metodología similar, realizado en 20 mujeres y con un seguimiento a uno y dos años, reportó el 80 y 90% de cura, respectivamente, al evaluar los mismos parámetros clínicos y urodinámicos³³. Durante el seguimiento clínico no se registraron efectos secundarios graves (por ejemplo dolor pélvico, obstrucción, inflamación o incontinencia-urgencia de novo), tampoco se detectaron estrecheces, cicatrices o tumores en la ecografía transuretral y la cistoscopia⁴⁰, aunque se reportan pocos casos de infección del tracto urinario y problemas de vaciado, que requieren colocación de catéter uretral en el primer día de posoperatorio^{33,34,40,41}.

Strasser H et al, en dos estudios controlados aleatorizados, a los 12 meses de seguimiento, vieron que el 90-93% de mujeres que recibió células autólogas mediante ecografía transuretral fueron completamente continentas, en comparación con el 7-10% que recibió tratamiento convencional con colágeno; los parámetros clínicos y urodinámicos, así como la respuesta del rabdoesfínter y la uretra fueron estadísticamente significativos con el uso de CMDM (tabla 2) en el grupo que recibió colágeno, si bien hubo un incremento en el I-QOL y una disminución en la puntuación de incontinencia que fueron estadísticamente significativos, estos cambios fueron clínicamente irrelevantes en la mayoría de los pacientes^{34,41}.

Aunque se usó colágeno como material de transporte para los fibroblastos, esta cantidad fue menor que el volumen utilizado para tratar a las pacientes inyectadas con colágeno (4,8 ml). Por lo tanto, los efectos postoperatorios tras la inyec-

Tabla 2.- Resultado de los parámetros medidos antes y después de la inyección de mioblastos y fibroblastos autólogos

| | Mediana preoperatoria | Desviación estándar | Mediana postoperatoria | Desviación estándar | Valor - p |
|----------------------------------|-----------------------|---------------------|------------------------|---------------------|-----------|
| Score de incontinencia | 5,95 | 0,215 | 0,44 | 1,059 | <0,0001 |
| Índice de calidad de vida en IU | 51,38 | 10,36 | 104,06 | 6,839 | <0,0001 |
| Grosor de la uretra | 3,756 | 0,951 | 5,3 | 0,802 | <0,0001 |
| Grosor del rabdoesfínter | 2,103 | 0,371 | 3,303 | 0,297 | <0,0001 |
| Contractilidad del rabdoesfínter | 0,56 | 0,246 | 1,462 | 0,354 | <0,0001 |
| Orina residual | 44,44 | 99,517 | 21,76 | 65,981 | 0,029 |
| Flujo urinario máximo | 19,568 | 8,952 | 22,029 | 8,015 | 0,002 |

IU: incontinencia urinaria. Tomada de Strasser H, et al⁴¹.

ción de células autólogas no pueden ser atribuidos a un efecto de abultamiento, ya que los volúmenes no fueron suficientes para comprimir la uretra. Estos datos sugieren que la inyección de CMDM lleva a una regeneración del rabdoesfínter y la submucosa (fig. 7)^{34,41}.

En el primer estudio realizado en América del Norte en el 2008, 8 mujeres con IUE fueron tratadas en forma ambulatoria con inyecciones de células madre ($10-12 \times 10^6$ células) mediante cistoscopia bajo anestesia local; tres pacientes recibieron inyección transuretral con aguja tipo Williams® de 8 mm, dos mujeres con aguja modificada tipo Williams® de 10 mm, la que al parecer incrementó el éxito en la terapia, y las últimas tres recibieron el mismo patrón de inyección periuretral, usando una aguja de 25-G, 1,5-in. En el seguimiento fueron evaluados parámetros como el peso del pañal, el diario miccional y la calidad de vida durante el primer, tercer, sexto y decimosegundo mes. Los primeros síntomas de mejoría se observaron entre los tres y 8 meses después de la inyección; al final del estudio 5 de las 8 mujeres alcanzaron continencia total⁴².

Uso de células madre derivadas de músculo en incontinencia urinaria de esfuerzo masculina

La utilidad de los mioblastos y fibroblastos autólogos para el tratamiento de la IUE post-prostatectomía, mediante inyección con guía ecográfica transuretral ($5,4 \times 10^6$ a 6×10^7 fibroblastos y $5,1 \times 10^6$ a $3,6 \times 10^7$ mioblastos) mostró resultados alentadores con el 65% de cura y el 27% de mejoría después de un año de seguimiento en cuanto a calidad de vida, grosor y contractilidad del rabdoesfínter, además de otros parámetros urodinámicos evaluados. A su vez es importante la evaluación preoperatoria de este tipo de pacientes, puesto que alteraciones como estrecheces, áreas fibróticas o cicatrices en la uretra membranosa, la inyección previa de agentes de abultamiento, la uretrotomía interna y la radioterapia tienen una influencia negativa en la tasa de éxito de esta nueva modalidad terapéutica, constituyendo contraindicaciones formales para la misma. Se reportó un caso de infección del tracto urinario y en 5 pacientes se colocó un catéter uretral durante 24 horas, debido a problemas de vaciado^{41,43}.

Cuando se comparó la administración estándar de colágeno, la transferencia de CMDM muestra una cura del 52% (11 pacientes de 21) frente al 7% (dos pacientes de 28)⁴¹.

Teniendo en cuenta la edad y el sexo, la primera no influye en los resultados después de la cirugía, pero los resultados posoperatorios son mejores en mujeres. Las diferencias relacionadas con el sexo en la puntuación de incontinencia, calidad de vida, grosor y contractilidad del rabdoesfínter, así como la orina residual, son estadísticamente significativas. Estas diferencias entre hombres y mujeres en los resultados posoperatorios se deben particularmente a la dificultad de la aplicación celular en hombres después de la prostatectomía radical, y por la cicatrización tras la radioterapia o la cirugía de próstata⁴¹.

En cuanto a la técnica de aplicación la guía ecográfica desempeña un papel crucial en este nuevo tratamiento, además

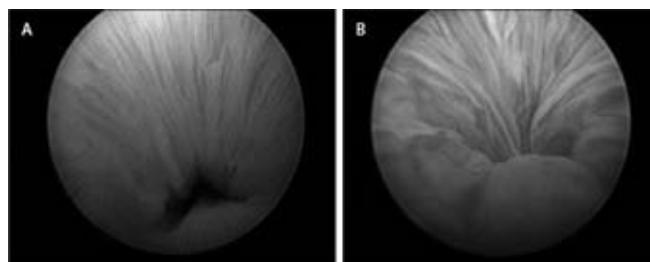


Figura 7 - Vista endoscópica. (A) Mucosa uretral atrófica con débil adhesión o coaptación antes del tratamiento. **(B)** Mejor coaptación debida a la regeneración del rabdoesfínter y la mucosa uretral un año después del tratamiento. Tomada de Strasser H, et al³⁴.

de la inyección del adecuado tipo celular, pues es de idéntica importancia inyectar las células exactamente en la estructura blanca; la ultrasonografía permite la inyección precisa y exacta de las células, lo que no puede realizarse usando la guía endoscópica estándar^{41,43}.

Conclusiones

La terapia con células madre mediante la inyección de mioblastos y fibroblastos autólogos ofrece la posibilidad de regeneración estructural y funcional de la uretra y el rabdoesfínter, mejorando la presión de cierre uretral y la actividad muscular estriada.

La terapia con células autólogas para la cura de la IUE hasta el momento se encuentra en investigación, con tasas de éxito que van del 80 al 90% en mujeres y del 50 al 65% en hombres, hasta dos años de seguimiento, sin complicaciones graves demostradas.

Son necesarios más estudios prospectivos aleatorizados doble ciego y multicéntricos, con mayor número de pacientes para evaluar si la aplicación de las células autólogas en el rabdoesfínter y la uretra podrían convertirse en un tratamiento estándar para la incontinencia urinaria.

Si bien la ecografía transuretral no ha sido utilizada para la aplicación precisa de sustancias de abultamiento, la utilización de grandes cantidades puede producir efectos secundarios graves.

También es necesario investigar el papel que desempeña la implantación de células madre autólogas en pacientes con IUE debido a hipermotilidad uretral y deficiencia esfinteriana intrínseca, solas o en combinación con los tradicionales cabestrillos medio-uretrales libres de tensión.

B I B L I O G R A F Í A

- Norton P, Brubaker L. Urinary incontinence in women. Lancet. 2006;367:57-67.
- Rortveit G, Hannestad YS, Daltveit AK, Hunskaar S. Age- and type-dependent effects of parity on urinary incontinence: the Norwegian EPINCONT study. Epidemiology of Incontinence in the County of Nord-Trondelag. Obstet Gynecol. 2001;98:1004-10.

3. Hunskaar S, Burgio K, Diokno A, Herzog AR, Hjälmås K, Lapitan MC. Epidemiology and natural history of urinary incontinence in women. *Urology*. 2003;62:16-23.
4. Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, Reilly K, Kopp Z, Herschorn S, et al. Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study. *Eur Urol*. 2006;50:1306-14.
5. Wennberg AL, Molander U, Fall M, Edlund C, Peeker R, Milsom I. A Longitudinal population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in women. *Eur Urol*. 2009;2885:1-8.
6. Meyer S, Schreyer A, De Grandi P, Hohlfeld P. The effects of birth on urinary continence mechanisms and other pelvic-floor characteristics. *Obstet Gynecol*. 1998;92:613-8.
7. Sampselle CM, Miller JM, Mims BL, Delancey JO, Ashton-Miller JA, Antonakos CL. Effect of pelvic muscle exercise on transient incontinence during pregnancy and after birth. *Obstet Gynecol*. 1998;91:406-12.
8. Kamo I, Torimoto K, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. Urethral closure mechanisms under sneeze-induced stress condition in rats: a new animal model for evaluation of stress urinary incontinence. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003;285:R56-65.
9. Strasser H, Tiefenthaler M, Steinlechner M, Bartsch G, Konwalinka G. Urinary incontinence in the elderly and age-dependent apoptosis of rhabdosphincter cells. *Lancet*. 1999;354:918-9.
10. Radley SC, Chapple CR, Bryan MP, Clarke DE, Craig DA. Effect of methoxamine on maximum urethral pressure in women with genuine stress incontinence: A placebo-controlled, double-blind cross-over study. *Neurourol Urodyn*. 2001;20:43-52.
11. Sweeney D, Chancellor MB. Treatment of stress urinary incontinence with duloxetine hydrochloride. *Rev Urol*. 2005;7:81-6.
12. National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE clinical guideline 40. Urinary incontinence: the management of urinary incontinence in women. October 2006. Disponible en: <http://www.nice.org.uk/CG040>
13. Schöder A, Abrams P, Andersson K-E, Artibani W, Chapple CR, Drake MJ, et al. Guidelines on Urinary Incontinence. European Association of Urology; 2009. Disponible en: http://www.uroweb.org/fileadmin/tx_eauguidelines/2009/Full/Incontinence.pdf
14. Latthe PM, Foon R, Khan K. Nonsurgical treatment of stress urinary incontinence (SUI): grading of evidence in systematic reviews. *BJOG*. 2008;115:435-4.
15. Appell RA, Dmochowski RR, Herschorn S. Urethral injections for female stress incontinence. *BJU Int*. 2006;98:27-30.
16. Kiilholma PJ, Chancellor MB, Makinen J, Hirsch IH, Klemi PJ. Complications of Teflon injection for stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn*. 1993;12:131-7.
17. Lee P, Kung R, Drutz H. Periurethral autologous fat injection as treatment for female stress urinary incontinence: a randomized double-blind controlled trial. *J Urol*. 2001;165:153-8.
18. Nilsson CG, Palva K, Rezapour M, Falconer C. Eleven years prospective follow-up of the tension-free vaginal tape procedure for treatment of stress urinary incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*. 2008;19:1043-7.
19. Jeon MJ, Jung HJ, Chung SM, Kim SK, Bai SW. Comparison of the treatment outcome of pubovaginal sling, tension-free vaginal tape, and transobturator tape for stress urinary incontinence with intrinsic sphincter deficiency. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199:76e1-4.
20. Bauer R, Bastian P, Gozzi C, Stief CG. Postprostatectomy incontinence: All about diagnosis and management. *Eur Urol*. 2008;55:322-33.
21. Sousa-Escandón A, Cabrera J, Mantovani F, Moretti M, Ioanidis E, Kondelidis N, et al. Adjustable suburethral sling (male REMEEX system) in the treatment of male stress urinary incontinence: a multicentric European study. *Eur Urol*. 2007;52:1473-80.
22. Novara G, Artibani W. Myoblasts and fibroblasts in stress urinary incontinence. *Lancet*. 2007;369:2139-40.
23. Dezawa M, Ishikawa H, Itokazu Y, Tomoyuki Y, Mikio H, Shim-i chi T, et al. Bone marrow stromal cells generate muscle cells and repair muscle degeneration. *Science*. 2005;309:314-7.
24. Qu-Petersen Z, Deasy B, Jankowski R, Ikezawa M, Cummins J, Pruchnic R, et al. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice: potential for muscle regeneration. *J Cell Biol*. 2002;157:851-64.
25. Rodríguez L, Alfonso Z, Zhang R, Leung J, Wu B, Ignarro LJ. Clonogenic multipotent stem cells in human adipose tissue differentiate into functional smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:12167-72.
26. Strem B, Hicok K, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber RE, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med*. 2005;54(3):132-41.
27. Strasser H, Tiefenthaler M, Steinlechner M, Eder I, Bartsch G, Konwalinka G. Age dependent apoptosis and loss of rhabdosphincter cells. *J Urol*. 2000;164:1781-7.
28. Strasser H, Ninkovic N, Hess N, Bartsch G, Stenzl A. Anatomic and functional studies of the male and female urethral sphincter. *World J Urol*. 2000;18:324-9.
29. Frauscher F, Helweg G, Strasser H, Enna B, Klauser A, Knapp R, et al. Intraurethral ultrasound: diagnostic evaluation of the striated urethral sphincter in incontinent females. *Eur Radiol*. 1998;8:50-3.
30. Strasser H, Pinggera G, Gozzi C, Horninger W, Mitterberger M, Frauscher F, et al. Three-dimensional transrectal ultrasound of the male urethral rhabdosphincter. *World J Urol*. 2004;22:335-8.
31. Digesu G, Robinson D, Cardozo L, Khullar V. Three-dimensional ultrasound of the urethral sphincter predicts continence surgery outcome. *Neurourol Urodyn*. 2009;28:90-4.
32. Macura KJ, Genadry R, Borman TL, Mostwin JL, Lardo AC, Bluemke DA. Evaluation of the female urethra with intraurethral magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging*. 2004;20:153-9.
33. Mitterberger M, Pinggera GM, Marksteiner R, Margreiter E, Fussegenegger M, Frauscher F, et al. Adult stem cell therapy of female stress urinary incontinence. *Eur Urol*. 2008;53:169-75.
34. Strasser H, Marksteiner R, Margreiter E, Pinggera GM, Mitterberger M, Frauscher F, et al. Autologous myoblasts and fibroblasts versus collagen for treatment of stress urinary incontinence in women: a randomized controlled trial. *Lancet*. 2007;369:2179-86.
35. Lee J, Cannon T, Pruchnic R, Fraser MO, Huard J, Chancellor MB. The effects of periurethral muscle-derived stem cell injection on leak point pressure in rat model of stress urinary incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*. 2003;14:31-7.
36. Lee J, Paik S, Yuk S, Lee JH, Ghil SH, Lee SS. Long term effects of muscle-derived stem cells on leak point pressure and closing pressure in rats with transected pudendal nerves. *Mol Cells*. 2004;18:309-13.
37. Cannon T, Lee J, Somogyi G, Pruchnic R, Smith CP, Huard J, et al. Improved sphincter contractility after allogenic muscle-

- derived progenitor cell injection into the denervated rat urethra. *Urology*. 2003;62(5):958-63.
38. Chermansky CJ, Tarin T, Kwon D, Jankowski RJ, Cannon TW, de Groat WC, et al. Intraurethral muscle-derived cell injections increase leak point pressure in a rat model of intrinsic sphincter deficiency. *Urology*. 2004;63(4):780-5.
39. Mitterberger M, Pinggera G, Marksteiner R, Margreiter E, Plattner R, Klima G, et al. Functional and histological changes after myoblast injections in the porcine rhabdosphincter. *Eur Urol*. 2007;52:1736-43.
40. Mitterberger M, Marksteiner R, Margreiter E, Pinggera GM, Colleselli D, Frauscher F, et al. Autologous myoblasts and fibroblasts for female stress incontinence: a 1 year follow-up in 123 patients. *BJU Int*. 2007;100:1081-5.
41. Strasser H, Marksteiner R, Margreiter E, Mitterberger M, Pinggera GM, Frauscher F, et al. Transurethral ultrasonography-guided injection of adult autologous stem cells versus transurethral endoscopic injection of collagen in treatment of urinary incontinence. *World J Urol*. 2007;25:385-92.
42. Carr L, Steele D, Steele S, Wagner D, Pruchnic R, Jankowski R, et al. 1-year follow-up of autologous muscle-derived stem cell injection pilot study to treat stress urinary incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*. 2008;19:881-3.
43. Mitterberger M, Marksteiner R, Margreiter E, Pinggera GM, Frauscher F, Ulmer H, et al. Myoblasts and fibroblast therapy for post-prostatectomy urinary incontinence: 1-year followup of 63 patients. *J Urol*. 2008;179:226-31.