

Inyección intracordal de células madres mesenquimáticas en el manejo de la fibrosis cordal: Experiencia preliminar

Intracordal injection of mesenchymal stem cells in scarred vocal folds: Preliminary report

Andrés Lanás V¹, Catalina Gutiérrez C², Rodrigo Mardones P³, Catalina Larraín B³.

RESUMEN

Introducción: Las células madres son células no especializadas capaces de transformarse en células con funciones específicas actuando como sistema de reparación. Las células madres mesenquimáticas (CMM) son las más utilizadas actualmente. La fibrosis cordal altera la estructura de las cuerdas vocales afectando seriamente su función, no existiendo hoy una terapia que pueda manejar exitosamente esta condición.

Objetivo: Evaluar la acción de la inyección intraoperatoria e intralesional de CMM autólogas en el proceso de reparación de lesiones cicatriciales crónicas en cuerdas vocales en pacientes con fracaso previo a terapias habituales.

Material y método: Estudio piloto prospectivo de 3 casos. Se realizó punción de cresta ilíaca para extracción de CMM de médula ósea, que se concentran y expanden. En una segunda etapa se realiza resección de fibrosis cordal bajo laringoscopia directa e inyección intralesional del concentrado de CMM. Se realizó seguimiento videostroboscópico.

Resultados: No hubo complicaciones en sitio de punción de cresta ilíaca ni en laringe tras la inyección. Se observó retorno de la vibración cordal en los 3 pacientes, con mejoría vocal importante en 2 de ellos.

Conclusión: La inyección intralesional de CMM aparece como una alternativa promisoriosa en el manejo de la fibrosis cordal con molestias mínimas para el paciente, requiriendo de mayores estudios.

Palabras clave: Células madres mesenquimáticas, fibrosis cordal, inyección intracordal.

¹ Departamento Otorrinolaringología Clínica Las Condes. Departamento Otorrinolaringología. Hospital del Trabajador de Santiago.

² Departamento Otorrinolaringología Pontificia Universidad Católica de Chile.

³ Departamento Traumatología Clínica Las Condes.

ABSTRACT

Introduction: Stem cells are unspecialized cells in the body capable of developing into specialized cells with specific functions working as a repair system. Mesenchymal stromal cells (MSC) are the most currently used. Scarred vocal folds cause severe voice problems. Nowadays there is no therapy that can successfully treat this condition.

Aim: Evaluate the results of intraoperative and intralesional injection of autologous MSCs in the repair and healing process of chronic scarred vocal folds in patients with prior failure to usual therapies.

Material and method: Prospective pilot study that includes three patients. MSCs were isolated and expanded from bone marrow taken from the Iliac crest of the patients. In a second stage, fibrosis resection was performed under direct laryngoscopy, and MSCs were injected intralesionally. Patients were followed up using videostroboscopy.

Results: There were no complications after iliac crest puncture or laryngeal injection. Vocal fold vibration appeared in all 3 patients, with significant improvement in voice quality in two of them.

Conclusions: Local injection of mesenchymal stromal cells appears to be a promising alternative in management of scarred vocal fold with minimal discomfort for the patient. Further studies are needed.

Key words: Mesenchymal stromal cells, scarred vocal folds, intracordal injection.

INTRODUCCIÓN

El rol de las células madres ha adquirido gran importancia en el último tiempo en lo que se refiere a las numerosas aplicaciones que han ido encontrando en diversos campos de la medicina. Las células madres son células no especializadas presentes en el cuerpo que son capaces de transformarse en células especializadas con funciones específicas de acuerdo a su nuevo rol¹⁻³. Actúan, de esta manera, como un sistema de reparación del organismo. Es por esto la gran potencialidad de la terapia celular en lo que se refiere a la medicina regenerativa.

Las células madres de origen mesenquimático (CMM) han logrado gran atención en este tipo de terapia, siendo las más utilizadas a la fecha. Esto se debe a varios factores: su habilidad de diferenciarse en linaje de múltiples tejidos; participan en el proceso de regeneración y reparación a través de mecanismos paracrinos; suprimen la activación y proliferación de células inmunes e inflamatorias⁴; pueden ser aisladas de múltiples tejidos del cuerpo; independiente del tejido de obtención tienen similares características biológicas, potencial de diferenciación y propiedades inmunológicas⁵⁻⁷. A esto se suma el hecho que corresponden a células madres

adultas somáticas no totipotenciales, evitando el conflicto ético que de ello se deriva, tanto en lo que se refiere a su obtención como utilización.

En términos generales, el objetivo de la terapia con CMM es el trasplante o inoculación de células autólogas o alogénicas a pacientes por vía sistémica o local, ofreciendo una nueva alternativa de reparación, aumento o reconstrucción tisular.

La cuerda vocal (CV) posee una estructura anatómica única que permite el desempeño de su función. Es multilaminar, donde el espacio de Reinke (espacio prácticamente virtual) juega un rol fundamental por dos razones: su presencia explica una cuerda vocal suave, vibrante, funcionante. Gran parte de la patología cordal se ubica en él. Cualquier grado de fibrosis que se produzca a este nivel, por mínima que sea, altera en alguna medida la capacidad vibratoria y flexibilidad de la mucosa con la consiguiente repercusión funcional.

El manejo de la fibrosis cordal, tanto en forma preventiva como curativa, representa un gran desafío aún no resuelto⁸. El manejo quirúrgico y la inyección de sustancias biocompatibles ha colaborado en forma parcial e insatisfactoria —en muchos casos— al manejo de esta patología. El problema que presentan las sustancias inyectadas es su corta duración ya que se reabsorben.

Un estudio *in vitro* de CV normales humanas observó que los fibroblastos de la lámina propia y de la *mácula flava* calzan con la definición de CMM⁹ basándose en criterios ampliamente aceptados como lo son sus características de crecimiento, marcadores de superficie y su habilidad de diferenciarse en múltiples líneas de tejidos mesenquimáticos¹⁰. La similitud, por lo tanto, entre estos fibroblastos y las CMM derivadas de médula ósea y de adipocitos indica que las CMM pueden ser adecuadas para nuevas terapias en reparación y regeneración de CV.

La inyección de CMM en la misma CV, ya sea al momento de realizar una cirugía cordal como manejo preventivo de la fibrosis que se generaría, o bien, como parte del armamento terapéutico de estas lesiones, ayudaría en la regeneración del tejido dañado, disminuyendo la generación de tejido cicatricial. Estudios han demostrado que las CMM humanas tienen una baja inmunogenicidad y, por otra parte, las cuerdas vocales representan un compartimento relativamente cerrado, poco vascularizado, por lo que sería un sitio inmunoprivilegiado que permitiría el injerto de células xenogénicas¹¹.

Estudios experimentales en conejos compararon la inyección de suero con la inyección de CMM de médula ósea de cresta ilíaca de voluntarios sanos y de ratones en el sitio de escarificación de CV de conejos y posterior a la escisión de una cicatriz crónica. Se observó que el tratamiento con CMM tiene el potencial de mejorar significativamente las propiedades histológicas y viscoelásticas de una CV con fibrosis. No se encontraron CMM en las CV tratadas a los 3 meses de inyectadas¹²⁻¹⁴. Pero el hecho que éstas no persistan o sobrevivan en el tejido a los 3 meses, debe ser interpretado positivamente ya que las células pluripotenciales no permanecen después que se ha completado el proceso de curación.

Se postula que las CMM tendrían un efecto anti-fibrótico sobre los fibroblastos cicatriciales mediado por el factor de crecimiento hepático (FCH)^{15,16}. Este factor aparece como un potente modulador de los fibroblastos de las CV disminuyendo la producción de colágeno, la proliferación celular y la expresión de actina de músculo liso α (α SMA) y aumentando la producción del ácido hialurónico lo que influye consecuentemente en la flexibilidad de la CV.

Los resultados actuales del uso de CMM son en modelos animales de mamíferos mayores o estudios

in vitro. No existe un modelo animal ideal para representar las CV humanas. Empero animales mamíferos mayores tendrían una capacidad de curación y patrón de cicatrización similar a los seres humanos¹⁷⁻¹⁹. Por lo tanto, parece razonable asumir que los hallazgos histológicos y viscoelásticos son extrapolables a CV humanas y los resultados podrían ser aún mejores en un ambiente autólogo para las CMM.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es evaluar la acción de la inyección intraoperatoria e intralesional de CMM autólogas en el proceso de reparación y curación cordal de lesiones cicatriciales en cuerdas vocales.

MATERIAL Y MÉTODO

El presente es un estudio piloto de tipo experimental prospectivo, llevado a cabo entre los años 2012 y 2013 en la Clínica Las Condes y en el Hospital del Trabajador.

Se incluyeron 3 sujetos con presencia de lesión cicatricial en una o ambas CV, generada ya sea por fonotrauma local crónico o resección previa de lesión intracordal benigna, con mala respuesta al tratamiento fonoaudiológico y manejo de la extirpación quirúrgica. Se excluyó a pacientes con antecedentes de resección de lesión maligna laríngea, alteraciones estructurales mínimas en CV tipo *sulcus* o puente mucoso, exposición a radioterapia, irritantes locales o inhalación de tóxicos en forma aguda o crónica, portador de enfermedad inflamatorio/inmunológica sistémica con compromiso laríngeo asociado, reflujo gastroesofágico diagnosticado con signos endoscópicos de comisuritis posterior laríngea severa, sin tratamiento ni control médico o tratamiento de menos de 6 meses, tabaquismo crónico persistente al momento del estudio, o lesiones cicatriciales cordales sin tratamiento previo. Los sujetos actuaron como su propio grupo control en lo que se refiere a la evaluación clínica del grado de fibrosis presente pre y postratamiento con CMM. Esto por el hecho que los pacientes seleccionados habían fracasado a los tratamientos previos a los que habían sido sometidos, incluyendo inyección intracordal periódica de

corticoides, resección quirúrgica de la fibrosis intracordal y manejo fonoaudiológico intensivo antes de poder incluirse en el presente estudio. Todos los pacientes tenían registros videoestroboscópicos previo al inicio del presente estudio y tuvieron apoyo fonoaudiológico posterior a la inyección intracordal de CMM.

El estudio fue financiado con fondos de investigación de la SOCHIORL concurso año 2011 y concurso de área académica de la Clínica Las Condes 2012. Y fue aprobado por el Comité de Ética de la Clínica Las Condes y del Hospital del Trabajador de Santiago.

Técnica a utilizar

1. Obtención de CMM: Tres semanas previo a la microcirugía laríngea, los pacientes fueron sometidos a una toma de muestra de médula ósea de la cresta ilíaca mediante trocar de punción por un traumatólogo con experiencia en tal procedimiento. La punción de médula ósea se realizó en pabellón bajo anestesia general. Se realiza asepsia y antisepsia de la zona a puncionar. Se introduce el trocar de punción a través del cual se obtienen 20 cc de médula ósea (Figuras 1a y 1b). Simultáneamente, se

extraen alrededor de 200 ml de sangre del paciente los que posteriormente servirán como medio de cultivo.

Dado que, por lo general, el número de células madres obtenidas mediante punción es bajo y, por otro lado, el pequeño volumen que puede ser inyectado en una CV, es que se requiere de un proceso de concentración y expansión de células, de tal modo de obtener un concentrado de CMM en un mínimo de volumen, que permita optimizar la respuesta buscada. Para conseguirlo, en el mismo pabellón quirúrgico se somete la muestra a un concentrador de células (Kit Bio Stem Cel de Laboratorio Bio Chile) el que separa las células mononucleares del resto (Figura 2). El concentrado de células mononucleares es de 4 ml aproximadamente donde se estima la presencia de 1 CMM/100.000 células mononucleares (Figura 3). Este concentrado celular es enviado para el proceso de expansión celular al Laboratorio de Ingeniería Tisular de la Clínica Las Condes donde, al cabo de 3 semanas, se espera contar con alrededor de 10.000.000 de células madres indiferenciadas.

2. Inyección de CMM: En pabellón y bajo anestesia general, se realiza laringoscopia

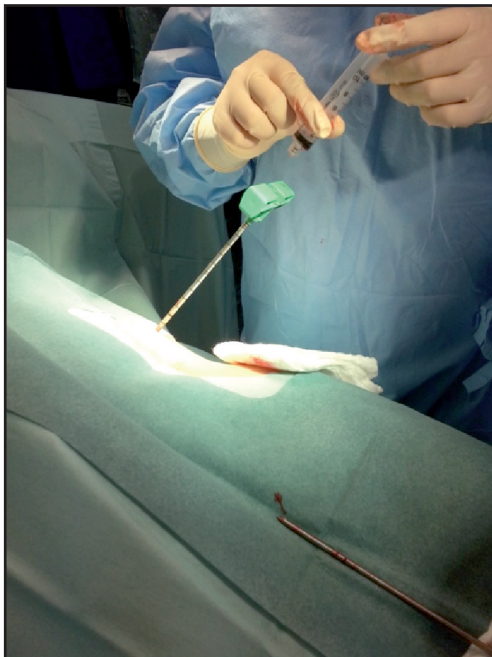


Figura 1a. Punción de médula ósea en cresta ilíaca.



Figura 1b. Instrumental utilizado en la punción.



Figura 2. Centrifugador utilizado en el pabellón.

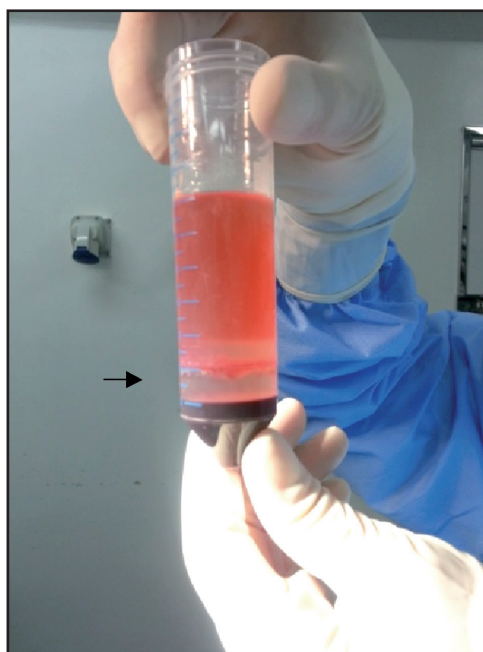


Figura 3. Trasudado mononuclear (flecha) obtenido tras la centrifugación, donde se encuentran las CMM.

directa con apoyo de microscopio. Se efectúa una cordotomía medial utilizando instrumental de fonomicrocirugía, resecano en forma conservadora la fibrosis presente en el espacio de Reinke, respetando el colgajo epitelial y ligamento, con el fin de no generar más fibrosis de la ya existente. Posteriormente, se procede a inyectar 1 ml del concentrado de CMM aproximadamente (se estima que se inoculan alrededor de 2 millones de CMM/ml). Este volumen se introduce en el bolsillo y en las zonas circundantes del mismo.

Ambos procedimientos contaban con consentimientos informados específicos para este estudio, revisados y aprobados por el Comité de Ética de la Clínica Las Condes. Los autores no presentan conflictos de interés a declarar.

Criterio para evaluar reparación de cuerdas vocales

El seguimiento fue estrictamente clínico, basado en hallazgos estroboscópicos: presencia o ausencia de onda mucosa, amplitud de la onda mucosa,

simetría de fase de la onda mucosa, zonas de fijación cordal. Además, una evaluación clínica de voz con laboratorio de voz realizado antes y después del procedimiento.

Los controles se realizaron a la semana posoperatoria, al mes, y mensualmente hasta los 6 meses poscirugía, realizando el laboratorio de voz en ese momento. Cada evaluación estroboscópica fue grabada y guardada, para poder ser revisada y comparada con las evaluaciones previas y posteriores. En la ficha clínica de cada paciente se constató, si así correspondía, cualquier morbilidad que se pudiera atribuir al procedimiento.

Debido a que se trata de pacientes con lesiones fibróticas previas, se usó el mismo paciente como su control para comparar los parámetros estroboscópicos. Los exámenes videoestroboscópicos tanto preoperatorios como posoperatorios fueron realizados por el mismo investigador (A.L.).

No se realizaron biopsias por razones obvias, para no generar lo que estamos tratando, esto es, fibrosis intracordal y lesión cicatricial secundaria.

RESULTADOS

La punción de médula ósea fue realizada por el mismo cirujano (C.L.) en todos los pacientes, siguiendo la técnica referida previamente. El paciente fue dado de alta el mismo día. No hubo complicaciones locales derivadas del procedimiento, ni molestias posteriores.

La laringoscopia directa fue realizada por el mismo cirujano (A.L.) bajo anestesia general. Ésta se realizó, en promedio, tres semanas posteriores a la punción de médula ósea, de acuerdo a la técnica descrita en la metodología. En el posoperatorio inmediato no hubo complicaciones siendo todos los pacientes dados de alta al día siguiente de la cirugía. La evolución posoperatoria inmediata hasta el control de la primera semana, siguió el curso de una laringoscopia directa habitual, en lo referente a dolor local, molestias faringolaríngeas y permeabilidad de vía aérea. En los controles tras una semana y al mes, la cuerda vocal inyectada presentó una evolución en todo comparable a cualquier cuerda sometida a una cordotomía, sin evidenciarse signos de una reacción inflamatoria local mayor a lo esperado o hemorragias. Los pacientes respetaron el reposo vocal absoluto de 7 días indicado posterior a la intervención iniciando apoyo fonoaudiológico a partir del día 8 en promedio. Todos los pacientes respetaron sus controles videoestroboscópicos programados a la semana y mensualmente al menos hasta los 6 meses.

En relación al abordaje fonoaudiológico posoperatorio llevado a cabo en todos los pacientes, éste se realizó respetando el criterio de individualidad, por lo cual, si bien la terapia se basó en ciertos ejercicios como técnicas principales, siempre se ejecutaron acorde a las capacidades y características de cada paciente. Como técnicas principales se efectuaron ejercicios enfocados en aumentar la presión espiratoria y ejercicios en registro de falsete. El aumento de la carga de los ejercicios así como su dificultad, se incrementó progresivamente de acuerdo al avance individual de cada paciente en el transcurso de las sesiones. Para un análisis más objetivo se realizó grabaciones de audio y posteriormente se analizaron con el *software Multi-Dimensional Voice Program* (MDVP) durante el transcurso del tratamiento. El número de sesiones se determinó en conjunto entre otorrinolaringólogo

y fonoaudiólogo de acuerdo a los avances de cada paciente.

Se realizó esta técnica en 3 pacientes de sexo femenino. A continuación se procederá a describir cada caso.

Caso 1

Paciente de 48 años, quien años atrás había sido operada de la CV derecha por pólipo cordal. Previamente, la paciente practicaba canto lírico, habiendo realizado presentaciones en diferentes eventos. Pero, posterior a la resección del pólipo, no pudo regresar a esta actividad por limitaciones importantes en su calidad vocal. Fue evaluada posteriormente en otra institución, diagnosticándose una cicatriz cordal e inyectándose corticoides intracordal, resección quirúrgica de la cicatriz y manejo fonoaudiológico prolongado; todo esto con el fin de mejorar el funcionamiento cordal, pero con resultados limitados. La videoestroboscopia, al ingresar al presente estudio, mostraba rigidez de la CV derecha, prácticamente sin onda mucosa evaluable, tensión laríngea aumentada probablemente compensatoria, con tono hacia los agudos. Tras la inyección intracordal de CMM, la paciente mostró una mejoría significativa en la capacidad vibrátil cordal y aparición de onda mucosa ya al primer mes de la intervención. Como consecuencia de ello, mejoró el cierre cordal y, por lo tanto, la calidad vocal. Alrededor de 6 meses después de la intervención, la paciente se animó a retomar clases de canto, logrando un rendimiento vocal que no había conseguido con los tratamientos previos. El período de seguimiento es de casi 24 meses.

Caso 2

Paciente de 48 años, trabaja como técnico en párvulos por más de 15 años, con niños entre 2 y 3 años, 44 horas/semana frente al aula, con cursos de 30 niños aproximadamente. Consultó a otorrinolaringología por disfonía progresiva de 5 años de evolución, diagnosticándose una lesión cordal derecha, que impresionó como un quiste intracordal. Fue intervenida quirúrgicamente, encontrándose que la lesión cordal era más bien de tipo fibrovascular, adherida al ligamento

cordal, organizada, probablemente secundaria a trauma vocal crónico. Posterior a la cirugía, la CV no retomó su capacidad vibrátil, persistiendo rígida, hipervascularizada, con apariencia de una monocarditis. Se realizó fonoaudiología intensiva, con reposo laboral prolongado, inyección intracordal periódica de corticoides, sin mayores cambios en la función cordal. Dado su trabajo permanente con la voz, presentaba disfonía frecuente con las consiguientes licencias. Debido al limitado resultado vocal obtenido hasta ese entonces, se le ofrece la inyección de CMM intracordalmente. Las estroboscopías posinoculación de éstas, mostraron una mejoría importante de la capacidad vibrátil de la CV en cuestión, observándose casi simétrica con la CV sana, que se hizo evidente en el control al mes posoperatorio. La paciente notó una mejoría en su voz, básicamente en relación a una disminución importante de la fatiga y cansancio vocal hacia el fin de la jornada y la semana. Desde la inyección de CMM hasta la fecha, la voz se ha mantenido bien, no habiendo requerido nuevas licencias por disfonía, logrando desempeñar su labor docente sin mayores restricciones, con un período de seguimiento de 18 meses.

Caso 3

Paciente de 51 años, profesora de Educación Básica, con 19 años de desempeño laboral al momento de consultar. Realizaba 38 horas/semana de clases en aula, con curso de 43 alumnos. Su motivo de consulta inicial fue disfonía progresiva en los últimos 5 años, sin evaluación ni manejo previo. En ese momento, la estroboscopia mostró CV eritematosas, gruesas, con capacidad vibrátil muy disminuida y onda mucosa reconocible casi ausente. En la CV izquierda, la más afectada, presentaba además una lesión de aspecto polipoideo. La paciente se sometió a cirugía, realizándose una resección de la lesión cordal exofítica, y por medio de cordotomía, remoción del tejido fibrovascular presente en el espacio de Reinke, producto de los microtraumas vocales repetidos. Posterior a la cirugía, el borde libre cordal se presentó sin irregularidades y la capacidad vibrátil cordal regresó discretamente. Tras apoyo fonoaudiológico extenso, con reposo vocal asociado, un año después se decidió reintervenir dicha cuerda para intentar

recuperar parcialmente su funcionalidad. Se realizó cordotomía con remoción del tejido cicatricial e inyección de corticoides locales, pero sin resultados positivos. En vista de la situación de la paciente y su dificultad evidente para poder desempeñar su actividad laboral, se le ofreció inyección de CMM. La paciente presentó una evolución favorable en los primeros meses posinyección, con recuperación parcial de la capacidad vibrátil cordal, logrando fonaciones más fáciles, con menos esfuerzo. Sin embargo, tras regresar a sus actividades docentes habituales, se comenzó a observar un deterioro de la onda mucosa cordal que se había recobrado. Finalmente, aquejada por otras situaciones adicionales personales y sus limitaciones vocales, decidió jubilarse en forma anticipada para dedicarse a otras actividades.

DISCUSIÓN

El manejo de la cicatriz cordal es un problema que continúa siendo desafiante y sin una terapia única y exitosa en los pacientes en quienes se aplica⁸. Se han intentado diversas intervenciones para su manejo, con resultados variables según las diferentes publicaciones. El tratamiento quirúrgico y la inyección de sustancias biocompatibles ha colaborado en forma parcial e insatisfactoria, en muchos casos, al manejo de esta patología, debido principalmente al proceso de reabsorción que sufren. Es por esto que el rol de las células madres ha ido cobrando importancia a nivel cordal, como potencial sistema de reparación de la cuerda vocal y, por lo tanto, de su función. De hecho, al revisar los trabajos publicados en relación a la inyección de CMM en modelos animales de CV con cicatriz, dicha terapia se plantea como una opción viable para el manejo de este tipo de lesiones.

Si bien las publicaciones están basadas en resultados obtenidos en modelos animales de mamíferos mayores como perros y conejos, o estudios *in vitro*, éstos resultan bastante auspiciosos. Por otro lado, se trata de una terapia autóloga, sin riesgo de rechazo o reacciones similares. Hay que tener en consideración, sin embargo, que la mayoría de los estudios realizados se aplica a cicatrices de reciente curso (<6 semanas), o bien, la creación de una zona cruenta cordal que sabemos

cicatrizará en forma inadecuada por lo severo de la lesión provocada, con la inyección concomitante de las CMM. Lo anterior puede ser visto como un elemento a favor de los resultados positivos mostrados en dichos estudios. Este punto es importante a tener en consideración, pues todos los pacientes del presente estudio presentaban cicatrices cordales de larga data, ya establecidas y maduras. Es por esto que el resultado obtenido en los casos realizados, con todas las limitaciones que puede presentar, nos parece destacable. Dos pacientes portadores de cicatriz cordal por largo tiempo, sometidas previamente a intervenciones quirúrgicas, inyecciones periódicas de corticoides intracordales, con manejo y apoyo fonoaudiológico por períodos prolongados, lograron importantes resultados tanto estroboscópicos como en su rendimiento vocal, que les permitieron regresar a sus actividades previas. Considerando que lo que se agregó en el último procedimiento fue la inyección de CMM, ya que la cordotomía medial, la resección conservadora del tejido cicatricial presente en el espacio de Reinke y la fonoaudiología posoperatoria ya se habían intentado anteriormente, podríamos atribuir la mejoría a la inyección de CMM.

Nos parece importante hacer algunas reflexiones en relación al tercer caso, donde se observó una respuesta positiva inicial que luego fue decauyendo en el curso de los meses.

Primero, la terapia con CMM en el manejo de la cicatriz o fibrosis cordal en seres humanos sigue siendo experimental, en la cual todavía falta mucho por seguir averiguando y aprendiendo, y que no sería la panacea para todos los pacientes. Segundo, lo importante de la selección del paciente en cuestión. Esta situación la vivimos claramente con la paciente 3. Creemos que sus características personales y psicológicas no contribuyeron a obtener un mejor resultado vocal que el que finalmente se logró. Su adherencia y compromiso con el tratamiento no fue el esperado o deseado. En este sentido, puede ser razonable incorporar alguna evaluación psicológica en futuros protocolos, considerando los costos involucrados y los períodos de rehabilitación que pueden ser prolongados. Más aún, teniendo en cuenta que el componente funcional y emocional suele ser un elemento presente en mucha patología vocal crónica. La paciente nunca logró adquirir una adecuada técnica vocal,

manteniendo las conductas de abuso vocal, lo que se hacía evidente en los controles fonoaudiológicos y estroboscópicos realizados regularmente. En el transcurso de los meses posteriores a la intervención, una vez ya de regreso a sus labores de aula en el colegio en el que trabajaba, sus CV comenzaron a mostrar signos progresivos de inflamación, con gran tensión laríngea asociada. En las terapias vocales, la motivación, el compromiso e involucramiento del paciente en su propio tratamiento es fundamental en la obtención del resultado final. Y esto es muy importante detectarlo antes de ofrecer terapias o intervenciones que, tal vez, el paciente no ha buscado explícitamente o no percibe como beneficiosas para su situación.

Tercero, el resultado exitoso final de una intervención quirúrgica sobre las cuerdas vocales depende del cirujano, del fonoaudiólogo y profesionales paramédicos involucrados en la terapia y, en forma muy importante, de la motivación y compromiso del paciente.

Este estudio es el primer paso en un camino que se nos presenta auspicioso. Hay muchas preguntas por responder, que requerirán de mayores casuísticas y de elementos de evaluación que nos permitan medir con mayor objetividad el resultado de estas intervenciones. Tenemos claro que la interpretación de la estroboscopia adolece de patrones medibles o graficables, basado en gran parte en la experiencia del evaluador. En este sentido, creemos que la incorporación de las mediciones aerodinámicas en los futuros pacientes, puedan ayudarnos a obtener valores concretos y medibles que reflejen objetivamente la mayor o menor rigidez cordal. El uso de laboratorio de voz, con las limitaciones que puede presentar, complementa la evaluación de cada paciente antes, durante y después de finalizado el tratamiento.

Existen otras interrogantes a estudiar en el futuro. ¿Cuál es la concentración óptima de CMM a inyectar intracordalmente? Esto considerando el pequeño volumen que puede recibir la CV y teniendo en cuenta las mayores concentraciones de CMM que se utilizan en otras aplicaciones de esta terapia. ¿Es beneficioso repetir la inyección de CMM y cuánto tiempo después de la primera dosis? El laboratorio de Ingeniería Tisular con que trabajamos tiene la posibilidad de guardar CMM por un periodo de tiempo, permitiendo que el pa-

ciente pueda ser reinyectado sin una nueva extracción de CMM. ¿Tendrá esto un real beneficio para el paciente? Por otro lado, estudios han sugerido la aplicación de células madres en conjunto con una estructura de soporte o malla, como podría ser ácido hialurónico o alguna otra sustancia de relleno, que podrían ayudar a mantener las células madres por más tiempo en el lugar, prolongando su actividad y eventual beneficio en el proceso regenerativo buscado²⁰.

Las células madres actuarían como un sistema de regeneración y reparación del organismo. En este sentido, y a la luz de los resultados publicados en la literatura en animales y nuestra experiencia preliminar, parece lógico orientar los futuros esfuerzos en el uso de terapia con células madres hacia la prevención o, al menos, en el manejo agudo de un proceso cicatricial. Existen patologías cordales que requieren de un manejo quirúrgico más agresivo, donde el uso concomitante de CMM podría ser de gran ayuda en disminuir y controlar el proceso cicatricial secundario. Ejemplos podrían ser los *sulcus* cordales, lesiones fibrovasculares intracordales consecuencia de trauma vocal crónico no tratado, quistes intracordales con reacción inflamatoria y fibrótica circundante por el trauma vocal generado, entre otros.

Definitivamente, la terapia celular ha llegado para quedarse. Nos parece que es imperioso profundizar los estudios en nuestra área con el fin de dilucidar cuál es el real aporte de esta nueva modalidad de tratamiento en nuestros pacientes, y puntualmente en lo que respecta a este artículo, en la funcionalidad de CV alteradas en su delicada estructura multilaminar por procesos cicatriciales o fibróticos.

CONCLUSIÓN

La aplicación intralesional de expandidos de CMM autólogas puede abrir una nueva alternativa en el manejo de lesiones cicatriciales o fibróticas a nivel cordal, tanto como manejo paliativo de cicatrices ya formadas, como preventivo en intervenciones con alta posibilidad de generar una fibrosis significativa. Hasta ahora, su uso en laringe se ubica dentro de la categoría de estudios experimentales, requiriéndose

de nuevos estudios con mayores casuísticas para ir avanzando en su aplicación.

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Otorrinolaringología Clínica Las Condes, Departamento de Otorrinolaringología de Hospital del Trabajador de Santiago y Laboratorio de Ingeniería Tisular de Clínica Las Condes.

Las fuentes de apoyo económico fueron fondos de investigación de la SOCHIORL concurso año 2011 y concurso de área académica de Clínica Las Condes 2012.

BIBLIOGRAFÍA

1. PITTENGER MF, MACKAY AM, BECK SC Y COL. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.
2. HAYNESWORTH SE, GOSHIMA J, GOLDBERG VM, CAPLAN AI. Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone* 1992; 13: 81-8.
3. LIECHTY KW, MACKENZIE TC, SHAAABAN AF Y COL. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med* 2000; 6: 1282-6.
4. HEMATTI P. Role of mesenchymal stromal cells in solid organ transplantation. *Transplant Rev* 2008; 22(4): 262-73.
5. HOOGDUIJN MJ, CROP MJ, PEETERS AM Y COL. Human heart, spleen, and perirenal fat-derived mesenchymal stem cells have immunomodulatory capacities. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 597-604.
6. PUISSANT B, BARREAU C, BOURIN P Y COL. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br J Haematol* 2005; 129: 118-29.
7. GOTHERSTROM C, RINGDEN O, WESTGREN M, TAMMIK C, LE BLANC K. Immunomodulatory effects of human foetal liver-derived mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32: 265-72.
8. FRANCO RA, ANDRUS JG. Common diagnoses and treatments in professional voice users.

- Otolaryngol Clin North Am* 2007; 40(5): 1025-61.
9. HANSON SE. Characterization of mesenchymal stem cells from human vocal fold fibroblasts. *Laryngoscope* 2010; 120(3): 546-51.
 10. DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I Y COL. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315-7.
 11. WANG EC, DAMROSE EJ, MENDELSON AH Y COL. Distribution of class I and II human leukocyte antigens in the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 134: 280-7.
 12. SVENSSON B. Injection of human mesenchymal stem cells improves healing of scarred vocal folds: analysis using a xenograft model. *Laryngoscope* 2010; 120(7): 1370-5.
 13. SVENSSON B. Injection of human mesenchymal stem cells improves healing of vocal folds after scar excision--a xenograft analysis. *Laryngoscope* 2011; 121(10): 2185-90.
 14. KIM YM. Bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells as a source of cell therapy for promoting vocal fold wound healing. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2013; 122(2): 121-30.
 15. KUMAI Y. Modulation of vocal fold scar fibroblasts by adipose-derived stem/stromal cells. *Laryngoscope* 2010; 120(2): 330-7.
 16. OHNO S. Role of circulating MSCs in vocal fold wound healing. *Laryngoscope* 2012; 122(11): 2503-10.
 17. ROUSSEAU B, HIRANO S, CHAN RW Y COL. Characterization of chronic vocal fold scarring in a rabbit model. *J Voice* 2004; 18: 116-24.
 18. ROUSSEAU B, HIRANO S, SCHEIDT TD Y COL. Characterization of vocal fold scarring in a canine model. *Laryngoscope* 2003; 113: 620-7.
 19. HIRANO S, MINAMIGUCHI S, YAMASHITA M, OHNO T, KANEMARU S, KITAMURA M. Histologic characterization of human scarred vocal folds. *J Voice* 2009; 23: 399-407.
 20. JOHNSON BQ, FOX R, CHEN X, THIBEAULT S. Tissue regeneration of the vocal fold using bone marrow mesenchymal stem cells and synthetic extracellular matrix injection in rats. *Laryngoscope* 2010; 120(3): 537-45.