

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
(UNAN –MANAGUA)
HOSPITAL ESCUELA DR. ROBERTO CALDERÓN GUTIÉRREZ



**Tesis para Optar al Título de Especialista en Ortopedia y
Traumatología**

**Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal
para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo
de seguimiento de 12 meses.**

Autora:

Dra. Heysell de los Ángeles Muñoz Estrada

Residente de la especialidad de Ortopedia y traumatología

Tutor clínico:

Dr. Francisco Quintana

Especialista en Cirugía Plástica

Asesor

Dr. Francisco Somarriba

Especialista en ortopedia

Managua, febrero 2021

DEDICATORIA

A mis padres Bosco Muñoz y Tania Estrada por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, todos mis logros se los debo a ustedes en los que se incluye este. Ustedes son la motivación en mi vida y mi orgullo.

A mi pequeño y dulce amor, Andrés Tenorio, todo esto es por ti y para ti.

A ti Amor mío, que me has acompañado por estos largos años, nunca dejaste de creer en mí, sin importar las circunstancias. Siempre estuviste conmigo en los momentos de alegría y en los momentos de tristeza, pero diciéndome siempre, “tú puedes lograrlo “. Tus palabras jamás las olvido.

A mis Hermanos, ustedes son parte de mi felicidad y todo este tiempo me apoyaron y creyeron en mí.

AGRADECIMIENTOS

Dios, tu amor y tu bondad no tienen fin, me permites sonreír ante todos mis logros que son resultado de tu ayuda y cuando caigo y me pones a prueba, aprendo a levantarme y no darme por vencida.

Gracias por guiarme en el camino del bien por permitirme crecer como persona y profesional. Agradezco tu presencia en cada momento difícil y cada momento de felicidad.

Gracias a mis Padres por ser los pilares en mi vida, jamás me abandonaron y dejaron de creer en mí, sin su ayuda nada de esto sería posible. Gracias por cuidar de mi Hijo cuando yo no podía estar con él, han sido y serán el mejor ejemplo en mi vida.

Les agradezco mucho a mis maestros, por brindarme sus enseñanzas día a día. Sé que todo lo que ustedes nos dicen es por el bien de cada uno de nosotros. Eternamente agradecida con todos.

También agradezco a mi familia por darme fuerzas y palabras de aliento durante todo este tiempo.

OPINIÓN DEL TUTOR

La Dra. Heysell de los Ángeles Muñoz Estrada, a través de la presente investigación contribuye a la sistematización y organización del conocimiento sobre los efectos y beneficios de una novedosa estrategia terapéutica consistente en la inyección autóloga de células estromales derivadas del tejido adiposo para promover el proceso de curación de las úlceras de pie diabético, especialmente sobre la microcirculación que comúnmente en pacientes diabéticos experimentan una perfusión tisular comprometida independientemente del estado del flujo sanguíneo intravascular.

La Dra. Muñoz Estrada ha llevado a cabo su trabajo con esfuerzo, dedicación, responsabilidad y alto rigor científico.

Los resultados de su investigación cuentan con gran validez científica y metodológica. Por tal motivo le felicito y le motivo a seguir creciendo profesional y humanamente.

Dr. Francisco Somarriba
Especialista en ortopedia

Asesor

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético en pacientes tratados en Hospital Escuela Dr, Roberto Calderón Gutiérrez, durante 12 meses de seguimiento, entre el 2019 y el 2020, se llevó a cabo estudio de fase 2 en humanos para evaluar la eficacia del trasplante de células FVV autólogas derivadas de tejido adiposo de dosis fija para las úlceras del pie diabético de tamaño crítico. El diseño del estudio fue prospectivo, no aleatorio, de etiqueta abierta de un solo brazo. Entre los resultados principales se observó que La media de edad fue de 53 años (DE 11.3), con una media de 55 años (rango de 35 a 72 años). Se observó un ligero predominio del sexo masculino (52% vs 47.6%). Las úlceras se caracterizaron por un tamaño crítico, con una media de 41 cm² (DE33.7) y una mediana de 26 (rango de 20 a 67). La eficacia global de un cierre del 100% a los 12 meses fue de 87%, y de más del 95% fue del 100%. Indicando que 9 de cada 10 pacientes presentarán un cierre completo en los primeros 12 meses pos tratamiento. La velocidad de cierre de la úlcera, expresado en la tasa de casos y el momento en que se logró un 100% del cierre de la úlcera, fue de más del 75%. Indicando que los efectos se observan tempranamente y estos permanecen sin cambios en los siguientes 12 meses, lo que es consistente con un proceso de curación estable.

ÍNDICE

RESUMEN.....	IV
LISTADO DE ABREVIATURA Y SIGLAS.....	VII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES	3
III. JUSTIFICACIÓN.....	5
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	7
PREGUNTAS DE SISTEMATIZACIÓN	7
V. OBJETIVOS	8
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
VI. HIPÓTESIS.....	9
VII. MARCO TEÓRICO	10
PATOGENIA DEL PIE DIABÉTICO	10
<i>Pie diabético causado por neuropatía.....</i>	<i>10</i>
<i>Pie diabético causado por lesión vascular.....</i>	<i>11</i>
<i>Pie diabético causado por infección</i>	<i>12</i>
TERAPIA ACTUAL PARA EL PIE DIABÉTICO.....	12
TERAPIA DEL PIE DIABÉTICO CON CÉLULAS MADRE	13
CÉLULAS SVF PARA PIE DIABÉTICO	15
<i>Adquisición de células SVF</i>	<i>15</i>
<i>Poblaciones celulares en SVF</i>	<i>15</i>
<i>Aplicación de SVF en pie diabético.....</i>	<i>16</i>
<i>Acción paracrina de la FVS</i>	<i>17</i>
<i>Mecanismo de citocina que promueve la reconstrucción vascular.....</i>	<i>18</i>
VIII. MATERIAL Y MÉTODO.....	19

TIPO DE ESTUDIO.....	19
ÁREA Y PERIODO DE ESTUDIO.....	19
UNIVERSO Y MUESTRA.....	19
CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	20
<i>Criterios de inclusión</i>	20
<i>Criterios de exclusión</i>	20
DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN.....	20
<i>Procedimiento quirúrgico</i>	20
<i>Procedimiento de trasplante celular</i>	21
<i>Atención posquirúrgica</i>	21
<i>Seguimiento</i>	21
TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS PARA RECOLECTAR LA INFORMACIÓN.....	22
<i>El instrumento</i>	22
TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS PARA PROCESAR LA INFORMACIÓN.....	22
<i>Creación de base de datos</i>	22
<i>Estadística descriptiva</i>	23
<i>Estadística inferencial</i>	23
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	23
IX. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	29
X. CONCLUSIONES.....	31
XI. RECOMENDACIONES.....	32
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	33
XIII. ANEXOS.....	40

LISTADO DE ABREVIATURA Y SIGLAS

SVF	Fracción vascular estromal
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
PGF	Factor de crecimiento plaquetario
VEGF	Factor de crecimiento de células endoteliales vasculares
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
ASCs	Células madre / estromales derivadas de tejido adiposo
PBS	Solución salina tampón fosfato
CD	Clúster de diferenciación
HPCs	Células madre hematopoyéticas
EPCs	Células progenitoras endoteliales
bFGF	Factor de crecimiento de fibroblastos básico

I. INTRODUCCIÓN

Recientemente, la incidencia de diabetes está aumentando en el mundo y la edad de aparición ha disminuido año tras año. La diabetes se ha convertido en un problema de salud que no se puede ignorar y la presencia prolongada de hiperglucemia podría inducir diversas complicaciones, incluido el pie diabético (Saeedi et al., 2019).

El pie diabético es causado por enfermedades de los vasos sanguíneos periféricos en diferentes grados y anomalías de los nervios distales de las extremidades inferiores en pacientes diabéticos, lo que resulta en infecciones del pie, úlceras y daño de tejidos profundos (Saeedi et al., 2019).

La enfermedad vascular periférica de la diabetes suele afectar a las arterias de las extremidades inferiores. En la etapa inicial, se caracteriza principalmente por claudicación intermitente. A medida que aumenta la estenosis arterial, los pacientes pueden tener dolor en reposo o incluso no pueden caminar. Posteriormente, la isquemia con infección y neuropatía podría causar necrosis tisular local, úlceras y gangrena, lo que provocaría pie diabético isquémico. Finalmente, el 10% de los dedos de los pies de los pacientes tienen que ser amputados y la grave infección causada por el pie diabético podría incluso poner en peligro sus vidas {Cerqueira, 2016 #2}.

Se ha informado que la infección es la principal causa de discapacidad y muerte en pacientes con pie diabético. Las infecciones neurogénicas e isquémicas representan el 45 ~ 60%, de las cuales el 25 ~ 44% son causadas por la neuropatía y el 10 % son causadas por la reducción del flujo sanguíneo {Hanley, 2015 #4}.

Esta enfermedad afecta la calidad de vida de los pacientes y representa una pesada carga económica para sus familias. Dado que el proceso patológico del pie diabético es extremadamente complicado, la terapia médica tradicional, el bypass vascular, la cirugía intervencionista y los métodos de tratamiento de amputación tienen ciertas limitaciones {Nguyen, 2016 #6}.

La tecnología de trasplante de células madre para el tratamiento del pie diabético representa en los últimos años uno de los principales focos de investigación relacionados con el manejo de las úlceras asociadas al pie diabético

Las células madre tienen las características de un alto potencial de autor renovación, proliferación y diferenciación múltiple, así como efectos paracrinos, que promueven la regeneración de los vasos sanguíneos y los tejidos nerviosos alrededor del sitio del trasplante para que las úlceras afectadas puedan lograr la reconstrucción de la circulación sanguínea y la sangre, proporcionar mejoría y, finalmente, lograr el propósito de curar el pie diabético {Bura, 2014 #1}.

La fracción vascular del estroma es un componente activo del tejido adiposo y contiene una variedad de células, incluidas las células madre adiposas.

Debido a los diversos tipos de células, tienen un fuerte potencial regenerativo, como la angiogénesis, la remodelación de tejidos y la regulación inmunológica. Se ha utilizado para el tratamiento clínico de diversas afecciones y ha mostrado buenos efectos curativos y de seguridad. Los estudios disponibles hasta la fecha encontraron que la SVF podría secretar una variedad de citocinas, diferenciarse en varias células, como las células endoteliales, y tener el potencial de participar en la angiogénesis in vivo. Por tanto, puede mejorar la circulación sanguínea local y formar el microambiente que favorece la supervivencia de las células tisulares y el mantenimiento funcional.

En este contexto, se llevó a cabo el presente trabajo de investigación que tuvo por objetivo, Evaluar la eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético en pacientes tratados en Hospital Escuela Dr, Roberto Calderón Gutiérrez, durante 12 meses de seguimiento, entre el 2019 y el 2020.

II. ANTECEDENTES

En 2002, se informó por primera vez sobre un protocolo de terapia celular para CLI, utilizando células mononucleares derivadas de la médula ósea implantadas por vía intramuscular (BM-MNC), con una PO₂ transcutánea mejorada (TcPO₂) y un tiempo de caminata sin dolor mejorado [Tateishi-Yuyama et al., 2002].

La administración intraarterial de BM-MNC demostró resultados en la cicatrización de heridas, pero pareció ser más eficaz para grados menos graves de isquemia, excluyendo la etapa 6 de Rutherford [Das et al., 2013; Franz et al., 2015; Walter y col., 2011].

Los esfuerzos clínicos se dedicaron a las células madre mesenquimales / estromales de la médula ósea (BM-MS), pero estos se han visto limitados por los grandes volúmenes de médula ósea necesarios, la necesidad de cultivo posterior y la heterogeneidad intrínseca del producto celular resultante.

Las células madre / estromales derivadas de tejido adiposo (ADSC) [Zuk et al., 2002] se han empleado en el rescate de la isquemia aguda de las patas traseras en ratas tratadas con diabetes [Álvarez García et al., 2017]. Clínicamente, las ADSC cultivadas autólogas (100x10⁶ células) trasplantadas por vía intramuscular en la pierna isquémica en siete pacientes han mostrado una mejora en la TcPO₂ y la cicatrización de heridas; Sin embargo, el seguimiento se limitó solo a seis meses (Bura et al., 2014). La aplicación de ADSC parece ser beneficiosa incluso en pacientes de edad avanzada > 70 y para úlceras grandes (> 5 cm²) [Guo et al., 2017], mientras que recientemente se revisó su aplicación para úlceras diabéticas en humanos [Lopes et al., 2018]. Estos estudios no evaluaron los cambios en la anatomía vascular como un factor en la respuesta de la herida a dichos tratamientos.

En 2017, estos autores describieron el primer uso en el hombre de células de la fracción vascular estromal derivada del tejido adiposo (FVS) administradas en el punto de atención de la serie de 10 pacientes con EVP grave según lo determinado por los hallazgos clínicos, el índice tobillo / brazo (ITB) y Angiografía por resonancia magnética [Carstens, et al., 2017]. La cohorte con 3 pacientes mixtos tenía diabetes, 4 tenía diabetes más arteriosclerosis y 4 tenían arteriosclerosis pura. Todos los pacientes tenían síntomas de dolor intratable: siete

pacientes tenían enfermedad de Rutherford clase 6, uno estaba en clase 4 y dos estaban en clase 3. Se presentaron úlceras de tamaño crítico (todas ≥ 3 cm de diámetro) en 6/10 pacientes. Sobre la base de síntomas de dolor intratable y / o heridas que no cicatrizan, y teniendo en cuenta los recursos limitados del sistema de salud de Nicaragua, todos los pacientes fueron considerados candidatos a la amputación. En 10/10 pacientes, la extremidad más sintomática se trató con inyección local de células FVS derivadas de tejido adiposo autólogas no expandidas para promover la neovascularización y la curación, con las células trasplantadas en el plano entre los músculos gastrocnemio y sóleo.

En aquellos pacientes con úlceras, se inyectó SVF por vía subcutánea alrededor del perímetro de la herida y directamente en el lecho de la herida. A los 18 meses de seguimiento, todos los pacientes lograron un alivio del par basado en la clase 1 de Rutherford y / o una cicatrización completa de la herida. Las puntuaciones de ABI mejoraron en 9/9 pacientes (un paciente de 85 años falleció por causas no relacionadas a los 4 meses de iniciado el estudio). Se documentó la curación espontánea en todas las heridas a los 9 meses. Se realizaron estudios de resonancia magnética en 6 pacientes, 5 de los cuales demostraron neovascularización de los lechos de la herida y nuevas anastomosis tanto en el suministro dorsal como en el plantar, dorsal pedis y tibial posterior, respectivamente.

En resumen: el resultado del estudio de 2017 demostró la viabilidad de un producto de células no expandidas, una población de SVF heterogénea procesada en el punto de atención para proporcionar una alternativa a la paliación o amputación en pacientes con PVD en etapa terminal.

III. JUSTIFICACIÓN

Con la creciente prevalencia mundial de diabetes mellitus, se espera un aumento significativo en el número de pacientes que padecen heridas que no cicatrizan. Sin embargo, los tratamientos disponibles, como la cirugía de revascularización y la educación sobre el cuidado de los pies, a menudo son insuficientes para asegurar una cicatrización satisfactoria de las heridas.

No se puede subestimar la importancia del flujo sanguíneo y el suministro de oxígeno al lecho de la herida para que la cicatrización de heridas en los pacientes diabéticos sea exitosa. Por lo tanto, se han realizado métodos de revascularización estándar como la angioplastia transluminal percutánea (PTA) y el injerto de derivación vascular para mejorar el flujo sanguíneo y la oxigenación tisular en los pies diabéticos. Sin embargo, los pacientes diabéticos pueden no ser elegibles para estos métodos debido a la presencia de comorbilidades de alto riesgo.

Además, el efecto terapéutico de los métodos de revascularización estándar puede no ser suficiente para mejorar la oclusión arterial ubicada distalmente en los pies diabéticos.

El pie diabético es una de las complicaciones más graves de la diabetes. En casos graves, esta enfermedad puede llevar a una amputación o incluso a la muerte debido a una infección secundaria y necrosis isquémica.

Desde la ineficacia de la terapia tradicional, el trasplante autólogo de células madre se ha utilizado para tratar el pie diabético. Se espera que esta terapia simple, segura y efectiva se aplique y promueva en el futuro.

Se ha demostrado que las células de la fracción vascular estromal derivada de tejido adiposo humano (FVS) son una de las fuentes de MSC. Las células SVF, que podrían obtenerse en grandes cantidades sin cultivo celular, contienen poblaciones de células heterogéneas, incluidas células madre y células endoteliales conocidas por acelerar la angiogénesis.

Recientemente, se han informado efectos beneficiosos de la inyección de células FVS sobre la microcirculación en estudios *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo, ningún estudio clínico

informó el efecto de la inyección de células FVS sobre la microcirculación en pacientes diabéticos que comúnmente experimentan una perfusión tisular comprometida independientemente del estado del flujo sanguíneo intravascular.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Formulación del problema

¿Cuál es la eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético en pacientes tratados en Hospital Escuela Dr, Roberto Calderón Gutiérrez, durante 12 meses de seguimiento, entre el 2019 y el 2020?

Preguntas de sistematización

- ¿Cuáles son las características sociodemográficas y las características de la úlcera en pie diabético, en los casos en estudio?
- ¿Cuál es la eficacia de la FVV de dosis única para lograr el cierre de la herida en los pacientes en estudio?
- ¿Cuál es el rango de tamaño de los defectos susceptibles de las dosis únicas, expresado en porcentaje de cierre de la úlcera a los 6 y 12 meses de seguimiento?
- ¿Cuál es la velocidad de cierre de la úlcera, expresado en la tasa de casos y el momento en se que logra un 100% del cierre de la úlcera?

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético en pacientes tratados en Hospital Escuela Dr, Roberto Calderón Gutiérrez, durante 12 meses de seguimiento, entre el 2019 y el 2020.

Objetivos específicos

1. Describir las características sociodemográficas de la población en estudio.
2. Identificar las características de la lesión al momento de inicio del estudio.
3. Determinar la tasa de cierre de la herida del 100% al final del seguimiento.
4. Determinar la velocidad de cierre de la úlcera, expresado en la tasa de casos y el momento en se que logra un 100% del cierre de la úlcera.

VI. HIPÓTESIS

La lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal es eficaz para la cicatrización de heridas del pie diabético en pacientes tratados en Hospital Escuela Dr, Roberto Calderón Gutiérrez, durante 12 meses de seguimiento, entre el 2019 y el 2020.

VII. MARCO TEÓRICO

Patogenia del pie diabético

Pie diabético causado por neuropatía

La complicación más común de la diabetes es la neuropatía diabética, que representa del 30% al 50% de los pacientes diabéticos. La incidencia es similar para hombres y mujeres, pero los hombres suelen presentarse antes que las mujeres debido a su estilo de vida y deficiencia de testosterona [16].

Los síntomas de la neuropatía diabética incluyen neuropatía central y neuropatía periférica, lo que resulta en neuropatía sensorial, motora y autonómica. La patogenia de la enfermedad puede estar relacionada con el aumento de factores neurotróficos y la disminución o desaparición de factores protectores [17].

La neuropatía sensorial es una causa importante de pie diabético. A menudo involucra los pequeños nervios que inervan el dolor y la temperatura del pie, lo que conduce a una disminución de la sensibilidad del paciente al trauma relacionado con el estrés y al daño de la piel. Por lo tanto, el mecanismo de autoprotección se pierde y la estimulación dañina no se puede sentir a tiempo, por lo que el pie es vulnerable a lesiones [18].

La neuropatía motora afecta principalmente a los pequeños nervios periféricos, lo que conduce a una inervación anormal del grupo de músculos gastrocnemio (principalmente flexores) en los pies. Este desequilibrio en la inervación provocará un cambio en la forma del pie, provocando que la cabeza humeral sobresalga. Mientras tanto, bajo la fricción del calzado inadecuado y la distribución de la gravedad, es fácil dañar el pie, lo que conduce a deformidad y úlcera [19].

La neuropatía autonómica es la más complicada de la neuropatía diabética, que podría afectar a todos los órganos y sistemas de todo el cuerpo. Después de la aparición de la neuropatía autónoma, se pierde la capacidad de regulación autónoma del flujo sanguíneo cutáneo. Al mismo tiempo, aumentan el cortocircuito arteriovenoso y la derivación. Aunque la

temperatura de la piel no es baja y el color es rosado, el suministro de sangre nutricional ha disminuido [20]. Además, la neuropatía autónoma podría causar una falta de secreción de glándulas lipídicas y sudoríparas, lo que hace que la piel se seque, sea propensa a agrietarse y se convierta en la puerta de entrada a la invasión bacteriana, lo que eventualmente conduce a úlceras [21].

Pie diabético causado por lesión vascular

La diabetes puede causar una amplia gama de enfermedades vasculares que involucran arterias, venas y capilares. La enfermedad vascular conduce a la disminución o incluso a la oclusión del flujo sanguíneo en las extremidades inferiores, lo que se convierte en la base patológica del pie diabético [22]. La principal enfermedad vascular causada por la diabetes es principalmente la aterosclerosis. Las principales causas pueden incluir hiperlipidemia, hiperglucemia, reducción de monóxido de carbono, resistencia a la insulina, anomalías en la hemaglutinación, cambios en el flujo sanguíneo, etc. [23]. Cuando se presenta aterosclerosis en pacientes diabéticos, la placa contiene más calcio, aumenta la expresión de marcadores inflamatorios y afecta los vasos sanguíneos en la parte más distal, especialmente el pie. Es más difícil formar la circulación colateral después de la oclusión vascular [24]. El riesgo de úlcera del pie diabético aumentó significativamente después de la enfermedad arterial periférica diabética y, a menudo, asintomático hasta que apareció la úlcera. Además, la reducción del riego sanguíneo no solo favorece la cicatrización de las heridas y la respuesta a la infección, sino que también es más probable que produzca lesiones en los pies [25].

Las complicaciones microvasculares de la diabetes son principalmente trastornos microcirculatorios, que incluyen enfermedad microvascular, trastorno microvascular y cambios en las propiedades fisicoquímicas de la sangre. En la patogenia del pie diabético, estos tres interactúan entre sí y se provocan mutuamente [26]. La diabetes puede provocar cambios en la función microvascular, la presión parcial de oxígeno y la permeabilidad vascular, así como alteración de la contracción rítmica de arteriolas y arteriolas. Estas anomalías pueden provocar una disminución del flujo sanguíneo capilar en la piel y un aumento de la permeabilidad vascular y la agregación plaquetaria, lo que conduce al engrosamiento de las células endoteliales vasculares y al agravamiento de la enfermedad

microvascular. Después de un tiempo prolongado, podría causar estenosis vascular, perfusión insuficiente de tejidos y órganos y trastornos de la circulación sanguínea en el extremo distal de la extremidad, lo que eventualmente conduce a la aparición de pie diabético [27].

Pie diabético causado por infección

Si la neuropatía periférica y la lesión vascular son condiciones indispensables para el desarrollo del pie diabético, la infección es la causa directa del pie diabético [28]. La respuesta inmune anormal de los pacientes diabéticos conduce al deterioro de la capacidad fagocítica de los neutrófilos, lo que debilita su respuesta a infecciones o lesiones. Al mismo tiempo, la isquemia agravará aún más esta respuesta [5]. La infección del pie podría atribuirse generalmente a cuatro factores de riesgo independientes: traumatismo profundo, traumatismo recurrente, traumatismo de larga duración (> 30 días) y enfermedad vascular periférica [29]. Aproximadamente un tercio de los pacientes diabéticos desarrollan fiebre cuando tienen una infección en el pie, pero es posible que la cantidad de glóbulos blancos no aumente a pesar de la infección generalizada. Sin embargo, si el paciente tiene neuropatía sensorial, la percepción del dolor o la temperatura se debilita, por lo que la percepción de infección se retrasará [30]. Si no se puede controlar el azúcar en sangre del paciente, la infección será difícil de controlar. Además, el trastorno de la circulación sanguínea eventualmente conducirá al rápido deterioro de la herida [31].

Terapia actual para el pie diabético

El tratamiento actual para el pie diabético incluye farmacoterapia, terapia de intervención vascular, terapia adyuvante con apósitos, oxigenoterapia hiperbárica, terapia de succión al vacío, terapia con factor de crecimiento y terapia con células madre [32].

Sin embargo, ninguno de los anteriores es suficiente para tratar el pie diabético. Los fármacos utilizados en el pie diabético son principalmente para las enfermedades vasculares, la neuropatía y los fármacos hipoglucemiantes [33]. La farmacoterapia para pacientes con pie diabético leve o moderado simplemente retrasa el desarrollo de sus lesiones; es la base para el tratamiento del pie diabético. Una vez que la terapia con medicamentos no es eficaz y la isquemia se agrava, es necesario utilizar la cirugía de intervención vascular para reconstruir

el flujo sanguíneo [34]. Sin embargo, dado que la mayoría de los diabéticos son ancianos y frágiles, que a menudo padecen enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, los pacientes no pueden tolerar la estimulación de la derivación quirúrgica. Además, las lesiones vasculares involucran muchas arterias y segmentos pequeños, lo que conduce a la falta de un canal de salida de la arteria distal en algunos pacientes, por lo que el injerto de derivación vascular y el tratamiento intervencionista no son aplicables [35]. Mientras tanto, el seguimiento a largo plazo mostró que los pacientes con pie diabético eran propensos a la reestenosis después de la intervención vascular. La proporción de pacientes que optan por la amputación sigue siendo elevada [6].

Además, las terapias no quirúrgicas incluyen terapia adyuvante con apósitos, terapia con oxígeno hiperbárico y terapia de succión al vacío. Este tipo de intervención física auxiliar simple podría mejorar la inflamación y la microcirculación de la herida, lo que promueve la cicatrización de la herida, pero el tratamiento requiere hospitalización a largo plazo, mientras que el efecto no es tan significativo [36]. El tratamiento con citocinas para promover la cicatrización de heridas es un nuevo método para el pie diabético. Las citocinas utilizadas incluyen principalmente factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento plaquetario (PGF), factor de crecimiento de células endoteliales vasculares (VEGF), factor estimulante de colonias de células (G-CSF) y factor de crecimiento de hepatocitos. (HGF) [37].

En los últimos años, el trasplante de células madre ha estado considerando una tecnología de vanguardia para tratar el pie diabético. Aunque las células madre no se utilizan actualmente como un medio de rutina para tratar el pie diabético en la práctica clínica, muchos investigadores han informado que el trasplante de células madre podría promover la neovascularización de las extremidades isquémicas, mejorar y restaurar el flujo sanguíneo de las extremidades y, en última instancia, curar el pie diabético [38– 41].

Terapia del pie diabético con células madre

Las células madre son una clase de células con potencial de autorenovación y diferenciación multidireccional que pueden diferenciarse en tipos específicos de células en condiciones específicas [42]. El trasplante de células madre para el tratamiento del pie diabético se basa

principalmente en el principio de que las células madre pueden diferenciarse en células endoteliales vasculares y células de músculo liso in vivo, secretando numerosos factores proangiogénicos para formar nuevos vasos sanguíneos. Las células madre se trasplantan en las extremidades inferiores isquémicas para diferenciarse gradualmente y formar nuevos capilares, lo que mejora y restablece el flujo sanguíneo a las extremidades inferiores y logra el propósito de tratar el pie diabético [43].

Actualmente, las células madre que se utilizan para tratar el pie diabético se derivan de muchas fuentes de tejido, como la médula ósea, el cordón umbilical, la placenta, la sangre del cordón, el corazón, el hígado, el bazo, la pulpa, la dermis y el tejido adiposo. Entre ellas, las células madre derivadas de tejido adiposo tienen la ventaja del tejido adiposo de amplia distribución pero de baja inmunogenicidad, que es más fácil de obtener pero menos perjudicial para los pacientes [44]. Muchos estudios iniciales fueron células madre / estromales derivadas de tejido adiposo (ASC) identificadas por Zuk, que han recibido una gran atención debido a su potencial de diferenciación pluripotente, propiedades paracrinas e influencia significativa en la medicina regenerativa [45]. Las ASC son un grupo de células madre homogéneas obtenidas por el subcultivo adherente de SVF recién aislado. La FVS es una población celular heterogénea que se obtiene al digerir el tejido adiposo [46]. Sin embargo, en comparación con las ASC, SVF no requiere ningún proceso de cultivo celular y puede usarse directamente después de la separación. Por lo tanto, es relativamente más seguro y puede cumplir con estándares regulatorios más bajos, lo que es favorecido por muchos investigadores clínicos [47].

La FVS se utiliza ampliamente para mejorar el pie diabético [48]. La investigación de Tan descubrió que la FVS puede aumentar la viabilidad y la migración de los fibroblastos en un entorno hiperglucémico regulando al alza las citocinas alrededor de la herida, acelerando así la cicatrización de la herida [49]. Chae usó SVF para tratar el pie diabético y descubrió que no solo la cantidad de fibroblastos aumentaba significativamente, sino que también la cantidad de colágeno sintetizado por los fibroblastos aumentaba significativamente. Los resultados de experimentos clínicos posteriores mostraron que cuando se curaron el 100% de las heridas de los pacientes tratados con SVF, la tasa de curación del grupo de control fue solo del 62%, lo que indica que la SVF podría acelerar la curación de heridas [50]

Células SVF para pie diabético

Adquisición de células SVF

El tejido adiposo del cuerpo humano se divide generalmente en grasa subcutánea y grasa visceral, que se puede obtener mediante liposucción o resección quirúrgica. Los materiales comunes incluyen abdomen, glúteos, antebrazos, ingle, etc. [51]. En general, los métodos de separación de la FVS podrían dividirse en dos categorías: métodos enzimáticos que utilizan enzimas proteolíticas para digerir el tejido adiposo y métodos de procesamiento físico y mecánico que no utilizan enzimas proteolíticas [52]. Los métodos enzimáticos a menudo usan colagenasa de tipo I para digerir el tejido adiposo. El proceso general se resume como sigue: el tejido adiposo y la colagenasa se mezclan en una proporción adecuada y se colocan en un ambiente a 37 ° C durante 1 h con agitación y digestión; luego se agrega una cantidad igual de medio completo para terminar la digestión. El sobrenadante se descarta por centrifugación, luego se lava con solución salina tampón fosfato (PBS) y finalmente se filtra a través de un filtro de tamaño de poro específico para obtener una suspensión de SVF. Digestión física y mecánica del tejido adiposo, incluidos métodos como digestión de suero, agitación mecánica y cizallamiento de bolo. En comparación con los métodos enzimáticos, este tipo de método de digestión lleva más tiempo y el rendimiento y la actividad celular no son lo suficientemente buenos; por tanto, no se utiliza mucho [53].

Poblaciones celulares en SVF

El tejido adiposo humano se puede obtener fácilmente de la liposucción o resección quirúrgica del abdomen, las nalgas, el antebrazo o la ingle. Las células FVS podrían obtenerse después de que el tejido adiposo se digiera con enzimas proteolíticas [54]. Las células SVF aisladas del tejido adiposo son poblaciones de células heterogéneas que contienen una variedad de células. Este componente multicelular podría identificarse mediante diferentes moléculas de la superficie celular. Las moléculas de superficie de las células, el grupo de diferenciación (CD), podrían utilizarse para identificar diferentes tipos de células en una población celular [55]. La Asociación Internacional de Terapia Celular ha declarado definir la FVS mediante este método de identificación. En la actualidad, la comunidad académica ha llegado a un consenso sobre los tipos de células que contienen las

células FVS [56]. Las células SVF contienen una variedad de tipos de células, como las ASC; células madre hematopoyéticas (HPC), células mesenquimales; y células progenitoras endoteliales (CPE), células endoteliales, pericitos y macrófagos [57-59].

Aplicación de SVF en pie diabético

Las células SVF pueden promover la recuperación del pie diabético a través de diversos efectos. La SVF, por ejemplo, contiene varias células que secretan directa o indirectamente factores bioactivos para inducir la degradación de la membrana basal, afectando la proliferación y migración de las células endoteliales, promoviendo así la fusión y remodelación de nuevos vasos sanguíneos. Además, estas citocinas podrían aumentar la estabilidad de los pericitos en la red vascular [13, 49, 60].

Diferenciación de SVF

Entre las células SVF, las ASC no solo ocupan una cantidad relativamente grande de células, sino que también tienen una fuerte capacidad de diferenciación. Las ASC son células madre pluripotentes que podrían diferenciarse directamente en células endoteliales vasculares, células de músculo liso y pericitos. Estas células regulan el crecimiento vascular, la estabilización y la maduración mediante la activación de las vías de señalización TGF- β , angiopoyetina-2, PDGF-B / PDGFR- β , Notch y S1P / Edg [61, 62]. Mientras tanto, los pericitos no sólo promueven la aparición de células progenitoras endoteliales, sino que también mantienen la integridad vascular para formar una red vascular [63]. Los estudios han demostrado que las ASC también podrían participar en la formación de nuevos microvasos junto con las células endoteliales para formar un sistema de red vascular estable [64]. Los experimentos con animales han demostrado que las ASC trasplantadas podrían diferenciarse en células endoteliales, mejorando significativamente el flujo sanguíneo y la densidad capilar en modelos animales diabéticos y no diabéticos de isquemia de miembros inferiores [65].

Acción paracrina de la FVS

Los estudios han encontrado que cuando las células de la FVS se trasplantan en el área isquémica, su densidad vascular, flujo sanguíneo y factor de crecimiento de hepatocitos secretado, factor de crecimiento endotelial vascular y factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) aumentan significativamente en comparación con el grupo de control [66]. Si se inhibe la síntesis de HGF, se reduce significativamente la capacidad de las células de la FVS para promover la vascularización del tejido isquémico [67]. Las células madre tratadas con anticuerpos VEGF también pierden capacidad proangiogénica en tejidos isquémicos [68].

Las ASC en las células FVS podrían secretar eficazmente un gran número de factores proangiogénicos y antiapoptóticos, como HGF, bFGF, VEGF, PGF-B y TGF- β [69]. Prochzka aisló los factores secretados por las ASC y los inyectó en las extremidades isquémicas de los conejos. Se encontró que la perfusión sanguínea del tejido isquémico en el grupo experimental fue dos veces mayor que en el grupo de control. La inmunohistoquímica mostró que la densidad capilar del grupo experimental fue significativamente mayor que la del grupo de control, lo que indica que las citocinas secretadas por ASC podrían promover la angiogénesis [70].

Además de las ASC, otros componentes de las células de la SVF también pueden promover la remodelación vascular a través de la vía paracrina. Los estudios han demostrado que la hipoxia puede inducir a los macrófagos a segregar factores de regeneración vascular como VEGF y bFGF, promoviendo así la formación de nuevos vasos sanguíneos [71].

Los macrófagos de los tejidos adiposos se pueden dividir en macrófagos de tipo M1 y macrófagos de tipo M2 según sus estados de activación. En las células de la FVS, más del 90% de los macrófagos son del tipo M2 [72].

El macrófago tipo M2 es un macrófago antiinflamatorio. Puede secretar factores antiinflamatorios como IL-4, IL-10, TGF- β y factores proangiogénicos como bFGF y VEGF, inhibiendo así la respuesta inflamatoria y promoviendo la formación de redes vasculares [73].

Las células endoteliales secretan exosomas y las células endoteliales adyacentes pueden actuar como células diana para unirse a los exosomas, promoviendo el crecimiento endotelial, la migración y la neovascularización [74]. Las células endoteliales pueden activar la vía de señalización ERK1 / 2 al expresar CXCL-1, inducir la secreción del factor de crecimiento epidérmico y promover la angiogénesis [75]. Además, las células del estroma, los fibroblastos y las células del músculo liso pueden secretar HGF y regular la angiogénesis [76].

Mecanismo de citocina que promueve la reconstrucción vascular.

Los componentes de las células de la FVS o el tejido hipóxico pueden secretar una gran cantidad de citocinas a través de la paracrina, y estas sustancias activas pueden acelerar la curación del pie diabético al promover la función biológica de las células corporales [69-71]. Por ejemplo, VEGF podría activar las células progenitoras endoteliales e inducir a las células endoteliales a secretar una variedad de catepsinas para la degradación de la matriz extracelular, así como inhibir la apoptosis de las células endoteliales y promover la proliferación, migración y neovascularización de las células endoteliales [77]. El HGF se une a su receptor y promueve la proliferación de células endoteliales vasculares activando la vía de señalización Grb2 / Sos-Ras-Raf-MAPK [76]. El bFGF induce la expresión de VEGF a través de la vía de señalización FGFR1 / c-Src / p38 / NFB- κ B [78]. Al mismo tiempo, la activación de NFB- κ B puede promover la síntesis de ADN de las células endoteliales, la división celular y la proliferación celular y promover la regeneración de los vasos sanguíneos [79]. El TGF- β contribuye a la producción de matriz extracelular y promueve la interacción entre las células endoteliales y las células parietales, lo que a su vez contribuye a la formación de vasos sanguíneos [80].

VIII. MATERIAL Y MÉTODO

Tipo de estudio

Este fue un segundo estudio de fase 2 en humanos para evaluar la eficacia del trasplante de células FVV autólogas derivadas de tejido adiposo de dosis fija para las úlceras del pie diabético de tamaño crítico. El diseño del estudio fue prospectivo, no aleatorio, de etiqueta abierta de un solo brazo.

Área y periodo de estudio

El estudio se llevo a cabo en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el periodo comprendido entre el 1 de febrero del 2019 y el 31 de diciembre del 2020.

Universo y muestra

El presente estudio representa un ensayo clínico de fase 2, por lo que su propósito es en esencia explorar su eficacia en un grupo limitado de pacientes enfermo o con la condición de interés.

En este contexto el universo esta constituido por todos los pacientes con diabetes tipo 2 y ulcera del pie diabético de tamaño critico (diámetro mayor ≥ 3 cm), constituyendo un universo teórico no conocido.

Debido a que este estudio es un ensayo de fase 2^a, no se quiere el cálculo del tamaño muestral ni la selección de una muestra representativa, ya que el propósito es explorar la eficacia de la intervención en un número limitado de la enfermedad que padece la enfermedad o condición de interés.

En este sentido, en el presente estudio la muestra estuvo constituido por 21 pacientes que cumplieron los criterios de selección y aceptaron participar en el estudio.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Los criterios de inclusión primarios fueron
- Diabetes activa que requirió tratamiento
- Úlcera de tamaño crítico en la extremidad inferior, dimensión ≥ 3 cm
- Sin evidencia de cicatrización en los primeros 3 meses desde la aparición de la úlcera

Criterios de exclusión

- Edad <30 años
- Con enfermedad cardiovascular inestable en el momento de la inscripción
- Tabaquismo
- Presencia de enfermedad pulmonar crónica, infección y / o sepsis en curso
- Diabetes no controlada.
- Muerte o abandono durante el seguimiento

Descripción de la intervención

Procedimiento quirúrgico

El procedimiento quirúrgico consistió en los siguientes pasos:

- (1) lipoaspiración en un recipiente estéril (SVF-2, GID Louisville, CO, EE. UU.);
- (2) lavado en serie con solución de Ringer lactato calentada a 37°C para restablecer el pH, eliminar los leucocitos y los eritrocitos, produciendo así "grasa seca";
- (3) digestión enzimática con colagenasa de grado GMP (GIDzyme, GID, Louisville, CO, EE. UU.) A 39°C durante 40 minutos en un gabinete de calentamiento a temperatura controlada con el recipiente girando continuamente para mantener las células en "caída libre" ;
- (4) neutralización por lavado repetido con solución de Ringer lactato calentada a 37°C ;

- (5) centrifugación a 600 g durante 6 minutos, seguido de agitación manual, seguido de una centrifugación repetida a 600 g durante 4 minutos; y
- (6) aspiración del sedimento SVF desde la cámara receptora y resuspensión.

Después de esto, las células se analizan usando un citómetro de fluorescencia automatizado (LunaStem®, Logos Biosystems, Annandale, VA, EE. UU.) Para determinar el recuento final de células viables. Los detalles de estos procedimientos se proporcionan en nuestro informe original (Carstens et al., 2017).

Procedimiento de trasplante celular

La aplicación clínica de las células se lleva a cabo después de obtener un recuento celular que proporciona la dosis total de células viables. A cada pie se le inyectó una dosis de SVF por un total de 30×10^6 ($\pm 5 \times 10^6$) células. Las células se entregaron en un total de 60 cc de timbres lactatos distribuidos de la siguiente manera. Se colocaron 20 cc en los tejidos subcutáneos que rodean el perímetro de la úlcera. Se colocaron 20 cc adicionales en el lecho de la úlcera, ya sea mediante un abordaje transplantar o desde la superficie hacia abajo. A nivel del tobillo, se colocaron 10 cc en paralelo con el curso del dorsal del pie (DP) y 10 cc a lo largo del tibial posterior (TP).

Atención posquirúrgica

Los pacientes fueron hospitalizados durante 48 a 72 horas después del procedimiento. El cuidado de la herida consistió en apósitos de solución salina (cloruro de sodio al 0,9%) con gasa sin relleno, cambiada dos veces. Los pacientes fueron dados de alta con instrucciones de continuar con el mismo régimen. No se prescribieron antibióticos. Se realizó un seguimiento del cuidado de la herida a las 7-10 días.

Seguimiento

Se realizó un examen enfocado al mes, 3 meses, 6 meses y 12 meses después del tratamiento. Las heridas fueron inspeccionadas y fotografiadas. En cada visita, se hicieron preguntas sobre los síntomas, cualquier cambio en los medicamentos y cualquier posible evento adverso. Se

proporcionaron materiales para vestirse y se reforzaron las instrucciones para la atención domiciliaria.

Técnicas y procedimientos para recolectar la información

El instrumento

Previo a la ejecución de la recolección principal de la información se elaboró un instrumento de recolección basado en la revisión de la literatura y en la opinión de expertos.

El instrumento estuvo conformado de preguntas cerradas y consta de las siguientes grandes secciones:

- A. Características sociodemográficas
- B. Antecedentes patológicos
- C. Hábitos
- D. Historia de la enfermedad
- E. Características de la lesión
- F. Evolución de la herida a los 6 y 12 meses
- G. Complicaciones
- H. Mortalidad

Técnicas y procedimientos para procesar la información

Creación de base de datos

La información obtenida a través de la aplicación del instrumento será introducida en una base de datos utilizando el programa SPSS 25.0 versión para Windows (SPSS Inc 2018).

Estadística descriptiva

Las variables categóricas (conocidas como cualitativas): Se describirán en términos de frecuencias absolutas (número de casos observados) y frecuencias relativas (porcentajes) (análisis univariado). Los datos serán mostrados en tablas de contingencia. Los datos serán ilustrados usando gráficos de barra.

Las variables cuantitativas fueron descritas en términos de media y desviación estándar, mediana y rango (mínimo y máximo). Las variables fueron ilustradas en forma de histogramas y diagrama de cajas.

Las variables cuya frecuencia fuese cero o bien no se reportasen en los expedientes clínicos serán omitidas de las tablas y gráficos.

Estadística inferencial

Estimación de parámetros

Se estimarán intervalos de confianza del 95% para cada proporción relevante (tipo de procedimientos, tasa de mortalidad y tasa de complicaciones)

Cruce de variables (análisis bivariado)

Para evaluar la asociación entre dos variables cualitativas se aplicará la prueba de Chi Cuadrado o la prueba exacta de Fisher (según corresponda).

Para determinar diferencias entre los grupos con respecto a una variable cuantitativa se utilizó la prueba de T de Student o la prueba de Mann Whitney (según corresponda). En caso de que la variable cualitativa tenga más de dos categorías se usó la prueba de ANOVA de un factor.

Se considerará que hubo un resultado significativo cuando el valor de p de cada prueba fuese <0.05 .

Consideraciones éticas

Fue aprobado por el Comité de Ética Médica de la UNAN-León y por el Ministerio de Salud de Nicaragua (MINSa). Los procedimientos seguidos fueron de acuerdo con los estándares

éticos del comité responsable de experimentación humana (institucional y nacional, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua - León) y la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 2000. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes. de acuerdo con los estándares del MINSA y la Organización Mundial de la Salud, e incluyó el consentimiento para publicar este estudio en todos los formatos. Se inscribieron pacientes que cumplían con los criterios de elegibilidad definidos por el protocolo de estudio del MINSA.

IX. RESULTADOS

Resultados del objetivo #1

Al evaluar la edad de los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio se observó que la media de edad fue de 54 años, con una desviación estándar de 11.3 años. La mediana fue de 55 años con un rango entre 35 y 72 años. (Ver cuadro 1)

Cuadro 1. Edad de los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

EDAD	ESTATUS CONOCIDO AL FINAL DEL SEGUIMIENTO	PERDIDA O ABANDONO	TOTAL DE PACIENTES
N	20	1	21
Media	54.0	42.0	53.4
Mediana	55.0	42.0	55.0
Desviación estándar	11.3		11.3
Mínimo	35.0	42.0	35.0
Máximo	72.0	42.0	72.0

Fuente: ficha de recolección de la información

Con respecto al sexo de los pacientes en estudio, se encontró que el 50% de los casos fueron masculinos y el 50% femenino. (Ver cuadro 2)

Cuadro 2. Distribución porcentual por sexo de los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

SEGUIMIENTO							
		Estatus conocido al final del seguimiento		Perdida o abandono		Total	
		n	%	n	%	n	%
SEXO	Femenino	10	50.0	0	0.0	10	47.6
	Masculino	10	50.0	1	100.0	11	52.4
	Total	20	100.0	1	100.0	21	100.0

Fuente: ficha de recolección de la información

Resultados del objetivo #2

De forma global todos los pacientes tenía ulcera de tamaño crítico. En promedio el diámetro mayor fue de 8 cm y el diámetro menor fue de 4.4. (Ver cuadro 3)

El área promedio estimada de los pacientes fue de 41 cm², variando entre 18 cm² y 120 cm². (Ver cuadro 3)

Cuadro 3. Extensión de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

		Seguimiento		
		Diámetro mayor	Diámetro	Área
N	Válido	20	20	21
Media		8.6	4.4	41.0
Mediana		7.0	4.0	26.6
DE		3.7	1.6	33.7
Mínimo		4.0	2.5	0.0
Máximo		15.0	8.0	120.0
Percentiles	25	6.0	3.0	18.0
	50	7.0	4.0	26.6
	75	12.0	5.0	67.5

Fuente: ficha de recolección de la información

Resultados del objetivo #3.

La tasa de curación de la herida al final del seguimiento fue del 100%. Del total de los 20 casos estudiados, a los 12 meses el 85% había alcanzado un 100% de cierre. (ver cuadro 4)

Cuadro 4. Tasa de curación de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

		N	%
Porcentaje (%) de curación (cierre de la herida) a los 6 meses de seguimiento	95.0	3	14.3
	100.0	18	85.7
	Total	21	100.0
Porcentaje de curación (cierre de la herida) a los 12 meses de seguimiento	95.0	2	9.5
	100.0	18	85.7
	Fallecido	1	4.8
	Total	21	100.0
Momento en el que se alcanza un 100% de curación y cierra de la herida	12 meses	1	4.8
	6 meses	17	81.0
	Fallecido	1	4.8
	No logra el 100%	2	9.5
	Total	21	100.0

Fuente: ficha de recolección de la información

Resultado del objetivo #4

Cuando se evaluó la velocidad de cierre de la herida del pie diabético, los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un

solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, entre el 2019 y el 2020, se observó que en promedio el cierre se dio a las 22 semanas. El caso que tardo más en lograr un cierre de la herida fue 48 semanas. (Ver cuadro 5)

Cuadro 5. Velocidad de cierre o curación de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

Estatus conocido al final del seguimiento			
		Semana de inicio	Semana de cierre
N	Válido	15	15
	Perdidos	5	5
Media		5.7	22.7
Mediana		6.0	24.0
Desviación estándar		1.5	3.3
Mínimo		2.0	20.0
Máximo		8.0	32.0
Percentiles	25	5.0	20.0
	50	6.0	24.0
	75	6.0	24.0

Fuente: ficha de recolección de la información

X. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Como nueva terapia para el tratamiento del pie diabético, el autotrasplante de células madre derivadas de tejido adiposo ha sido ampliamente utilizado en la práctica clínica y ha permitido eximir a algunos pacientes de la amputación o reducir el plano de amputación y mejorar la calidad de vida, lo que demuestra la viabilidad de esta tecnología [15, 81]. La FVS es una población celular heterogénea que interactúa entre sí para crear sinergia con todo el proceso de la angiogénesis. Sin embargo, el mecanismo específico de la angiogénesis sinérgica y la reconstrucción entre componentes aún necesita más investigación. Aunque las células SVF han logrado buenos efectos terapéuticos en muchos estudios, aún se necesita más investigación para determinar si la terapia celular tiene efectos secundarios como toxicidad del trasplante y reacciones adversas en el tratamiento a largo plazo. La evaluación del efecto de las células FVS en el tratamiento del pie diabético, incluida la supervivencia de las células madre, la tasa de proliferación y transformación y la determinación de las características de las células transformadas, aún debe estudiarse y resolverse en el futuro estudio .

Anteriormente se ha documentado (Carstens et al., 2017) la capacidad de las células SVF para lograr una mejora clínica de los síntomas y la cicatrización de heridas mediante la inyección de las células en el plano entre los músculos sóleo y gastrocnemio y el lecho de la úlcera PVD. Carstens et al reportan que esta curación se observó en 10 pacientes con PVD en los estadios 3-6 de Rutherford. Los estudios de angio MRI a los 6 meses documentaban la neovascularidad. A los 6 años de seguimiento, los pacientes supervivientes (5) demostraron estabilidad de estos hallazgos clínicos sin signos de enfermedad recurrente. La ecografía Doppler realizada en las extremidades tratadas de 4 de estos pacientes demostró a nivel de las arterias crurales (tibial anterior, dorsal del pie y tibial posterior) formas de ondas monofásicas con modificaciones en la fase diastólica compatibles con neovascularización distal que conducen a una disminución de la resistencia (y mayor flujo sanguíneo para sostener el pie)

Como se muestra en nuestro estudio de 2017, la neovascularidad se puede demostrar fácilmente mediante angio MRI. Con el mayor número de pacientes en este estudio,

particularmente en un sistema de salud como el de Nicaragua, esta tecnología es poco práctica como herramienta de investigación. Aunque no puede proporcionar una "hoja de ruta" anatómica de la vasculatura, la ecografía Doppler, tal como se eligió como técnica, demuestra evidencia fisiológica, aunque indirecta, de la formación de vasos sanguíneos distales, en forma de patrones de amortiguación en la forma de onda y en el aumento del flujo sanguíneo medido por la velocidad sistólica máxima (cm / seg). Además, la mejora de la elasticidad de las paredes arteriales se evidenció por cambios en el índice de pulsatilidad.

Cabe señalar que el proceso de curación que se observó en estas heridas fue sorprendentemente inusual por dos razones. Primero, el proceso de curación fue rápido, con cambios notados en el primer mes por prácticamente todos los pacientes y el cierre logrado en todos menos en 4 al sexto mes. En segundo lugar, la cicatrización apareció por dos mecanismos diferentes: desde la periferia, como se esperaba, pero también por la proliferación hacia arriba del propio lecho de la úlcera, de modo que, en varios casos, el tejido recién desarrollado fue capaz de cubrir los tendones previamente expuestos. Los mecanismos de este tipo de proliferación tisular, sobre estructuras hipovasculares, como ligamentos y tendones.

El estudio actual, como el anterior, proporciona más evidencia, a nivel estructural, de los efectos angiogénicos de las células de la FVS basados en los aumentos en el flujo sanguíneo observados en las arterias crurales, así como en los posibles cambios histológicos en las paredes de los vasos que afectan la distensibilidad arterial. Se deben explorar los mecanismos de proliferación de tejidos

En general, aunque el uso de células SVF para tratar el pie diabético aún se encuentra en la etapa inicial de investigación, tiene un enorme potencial en la aplicación clínica. Se cree que con una mayor investigación, las células SVF derivadas de tejido adiposo finalmente mostrarán sus ventajas celulares únicas y su valor terapéutico en la clínica.

XI. CONCLUSIONES

1. La media de edad fue de 53 años (DE 11.3), con una media de 55 años (rango de 35 a 72 años). Se observó un ligero predominio del sexo masculino (52% vs 47.6%). Las úlceras se caracterizaron por un tamaño crítico, con una media de 41 cm² (DE33.7) y una mediana de 26 (rango de 20 a 67)
2. La eficacia global de un cierre del 100% a los 12 meses fue de 87%, y de más del 95% fue del 100%. Indicando que 9 de cada 10 pacientes presentarán un cierre completo en los primeros 12 meses postratamiento.
3. La velocidad de cierre de la úlcera, expresado en la tasa de casos y el momento en se que logra un 100% del cierre de la úlcera fue de más del 75%. Indicando que los efectos se observan tempranamente y estos permanecen sin cambios en los siguientes 12 meses, lo que es consistente con un proceso de curación estable

XII. RECOMENDACIONES

El estudio actual, como el anterior, proporciona más evidencia, a nivel estructural, de los efectos angiogénicos de las células de la FVS basados en los aumentos en el flujo sanguíneo observados en las arterias crurales, así como en los posibles cambios histológicos en las paredes de los vasos que afectan la distensibilidad arterial. Se deben explorar los mecanismos de proliferación de tejidos

En general, aunque el uso de células SVF para tratar el pie diabético aún se encuentra en la etapa inicial de investigación, tiene un enorme potencial en la aplicación clínica. Se cree que con una mayor investigación, las células SVF derivadas de tejido adiposo finalmente mostrarán sus ventajas celulares únicas y su valor terapéutico en la clínica.

En este contexto recomendado explorar su aplicación y establecer un programa de entrenamiento a nivel del hospital que permita la implementación de este tipo de intervenciones, y proporcionar un seguimiento a más largo plazo a los pacientes.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Weck M, Slesaczeck T, Rietzsch H, et al. Noninvasive management of the diabetic foot with critical limb ischemia: current options and future perspectives. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2011;2(6):247–255.
2. Apelqvist J, Bakker K, Van Houtum W, et al. International consensus and practical guidelines on the management and the prevention of the diabetic foot. *Diabetes Metab Res Rev.* 2000;16(S1):84–92.
3. Park JY, Jung HG. Diabetic foot: ulcer, infection, ischemic gangrene. *Foot and ankle disorders.* Springer. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2016;24(02):555–84.
4. Rahelić D. Of IDF diabetes atlas--call for immediate action. *Lijec Vjesn.* 2016;138(1–2):57–58.
5. Shearman CP, Windhaber RJS. Foot complications in patients with diabetes. *Surgery (Oxford)* 2010;28(6):288–292. [Google Scholar]
6. Vouillarmet J, Bourron O, Gaudric J, et al. Lower-extremity arterial revascularization: is there any evidence for diabetic foot ulcer-healing? *Diabetes Metab.* 2016;42(1):4–15.
7. Blumberg SN, Berger A, Hwang L, et al. The role of stem cells in the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012;96(1):1–9.
8. Lopes L, Setia O, Aurshina A, et al. Stem cell therapy for diabetic foot ulcers: a review of preclinical and clinical research. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):188.
9. Zarei F, Negahdari B, Eatemadi A, et al. Diabetic ulcer regeneration: stem cells, biomaterials, growth factors. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2018;46(1):26–32.
10. Han S, Sun HM, Hwang KC, et al. Adipose-derived stromal vascular fraction cells: update on clinical utility and efficacy. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2015;25(2):145–152.
11. Zanata F, Shaik S, Devireddy R V, et al. Cryopreserved adipose tissue-derived stromal/stem cells: potential for applications in clinic and therapy. *Biobanking and Cryopreservation of Stem Cells.* Springer. *Adv Exp Med Biol.* 2016;951(01):137–46. [PubMed]

12. Moon KC, Chung HY, Han SK, et al. Possibility of injecting adipose-derived stromal vascular fraction cells to accelerate microcirculation in ischemic diabetic feet: a pilot study. *Int J Stem Cells*. 2019;12(1):107–113.
13. Didangelos T, Koliakos G, Kouzi K, et al. Accelerated healing of a diabetic foot ulcer using autologous stromal vascular fraction suspended in platelet-rich plasma. *Regen Med*. 2018;13(3):277–281.
14. Lonardi R, Leone N, Gennai S, et al. Autologous micro-fragmented adipose tissue for the treatment of diabetic foot minor amputations: a randomized controlled single-center clinical trial (MiFrAADiF) *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):223.
15. Andia I, Maffulli N, Burgos AN. Stromal vascular fraction technologies and clinical applications. *Expert Opin Biol Ther*. 2019;19(12):1289–1205.
16. Pafili K, Papanas N, Ziegler D. Neuropathy in diabetes: “one cannot begin it too soon” *Angiology*. 2018;69(9):752–754.
17. Jaiswal M, Divers J, Urbina E, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in adolescents and young adults with type 1 and type 2 diabetes: the SEARCH for diabetes in youth cohort study. *Pediatr Diabetes*. 2018;19(4):680–689.
18. Kalish J, Hamdan A. Management of diabetic foot problems. *Int J Surg*. 2010;51(2):476–486.
19. Papanas N, Maltezos E. The diabetic foot: a global threat and a huge challenge for Greece. *Hippokratia*. 2009;13(4):199–104.
20. Vinik AI, Casellini C, Parson HK, et al. Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a predictor of cardiometabolic events. *Front Neurosci*. 2018;12:591.
21. Andrews KL, Dyck PJ, Kavros SJ, et al. Plantar ulcers and neuropathic arthropathies: associated diseases, polyneuropathy correlates, and risk covariates. *Adv Skin Wound Care*. 2019;32(4):168–175.
22. Troisi N, Ercolini L, Chisci E, et al. Diabetic foot infection: preliminary results of a fast-track program with early endovascular revascularization and local surgical treatment. *Ann Vasc Surg*. 2016;30:286–291.
23. Green E, Johnson B. Evaluation and management of vascular disease in the diabetic patient. *The Surgical Management of the Diabetic Foot and Ankle*. Springer. 2016. p. 19–27. 10.1007/978-3-319-27623-6_3.

24. Ferik S, Güven H, Ateş MP, et al. Diabetic polyneuropathy, deep white matter lesions, and carotid atherosclerosis: is there any association? *Neurol Sci.* 2018;39(1):103–110.
25. Malyar NM, Freisinger E, Meyborg M, et al. Amputations and mortality in in-hospital treated patients with peripheral artery disease and diabetic foot syndrome. *J Diabetes Complicat.* 2016;30(6):1117–1122.
26. Dioszegi A, Vass M, Nemeth N, et al. Rheopheresis treatment of diabetic foot syndrome. *Atherosclerosis.* 2017;263:e272. [Google Scholar]
27. American Diabetes Association Microvascular complications and foot care: standards of medical care in diabetes 2018. *Diabetes Care.* 2018;41(1):S105–S118.
28. Lavery LA, Ryan EC, Ahn J, Crisologo PA, Oz OK, La Fontaine J, Wukich DK. The Infected Diabetic Foot: Reevaluating the Infectious Diseases Society of America Diabetic Foot Infection Classification. *Clin Infect Dis.* 2020;70(8):1573–9. 10.1093/cid/ciz489. [PubMed]
29. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, et al. Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(6):1288–1293.
30. Markakis K, Faris A, Sharaf H, et al. Local antibiotic delivery systems: current and future applications for diabetic foot infections. *Int J Low Extrem Wounds.* 2018;17(1):14–21.
31. Eltzschig H, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat Med.* 2011;17(11):1391–1301.
32. Lipsky BA. Diabetic foot infections: current treatment and delaying the post antibiotic era. *Diabetes Metab Res Rev.* 2016;32:246–253.
33. Karri V, Kuppusamy G, Talluri SV, et al. Current and emerging therapies in the management of diabetic foot ulcers. *Curr Med Res Opin.* 2016;32(3):519–542.
34. Ibrahim A, Practice C. IDF clinical practice recommendation on the diabetic foot: a guide for healthcare professionals. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;127:285–287.
35. Joret M, Dean A, Cao C, et al. The financial burden of surgical and endovascular treatment of diabetic foot wounds. *J Vasc Surg.* 2016;64(3):648–655.
36. Mutluoglu M, Lipsky B. Non-surgical treatment of diabetic foot osteomyelitis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5(8):668.

37. Rivero-González A, Martín-Izquierdo E, Marín-Delgado C, et al. Cytokines in diabetes and diabetic complications. *Cytokine Effector Functions in Tissues*. Elsevier. Academic Press; 2017. p. 119–28. 10.1016/B978-0-12-804214-4.00006-3.
38. Cao Y, Gang X, Sun C, et al. Mesenchymal stem cells improve healing of diabetic foot ulcer. *J Diabetes Res*. 2017;2017:9328–9347.
39. Mizukami H, Yagihashi S. Is stem cell transplantation ready for prime time in diabetic polyneuropathy? *Curr Diab Rep*. 2016;16(9):86.
40. Qin H, Zhu X, Zhang B, et al. Clinical evaluation of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation after angioplasty for diabetic foot. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2016;124(08):497–403.
41. Wu Q, Lei X, Chen L, et al. Autologous platelet-rich gel combined with in vitro amplification of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation to treat the diabetic foot ulcer: a case report. *Ann Transl Med*. 2018;6(15):307.
42. Gehling UM, Ergün S, Schumacher U, et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells. *Blood*. 2000;95(10):3106–3112.
43. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360(9331):427–435.
44. Tobita M, Orbay H, Mizuno H. Adipose-derived stem cells: current findings and future perspectives. *Discov Med*. 2011;11(57):160–170.
45. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211–228.
46. Locke M, Windsor J, Dunbar P. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery. *ANZ J Surg*. 2009;79(4):235–244.
47. Domergue S, Bony C, Maumus M, et al. Comparison between stromal vascular fraction and adipose mesenchymal stem cells in remodeling hypertrophic scars. *PLoS One*. 2016;11(5):e0156161.
48. Haney N, Gabrielson A, Kohn T, et al. The use of stromal vascular fraction in the treatment of male sexual dysfunction: a review of preclinical and clinical studies. *Sex Med Rev*. 2019;7(2):313–320.

49. Tan S, Yeo X, Liang Z, et al. Stromal vascular fraction promotes fibroblast migration and cellular viability in a hyperglycemic microenvironment through up-regulation of wound healing cytokines. *Exp Mol Pathol*. 2018;104(3):250–255.
50. Chae DS, Han S, Son M, et al. Stromal vascular fraction shows robust wound healing through high chemotactic and epithelialization property. *Cytotherapy*. 2017;19(4):543–554.
51. Piché ME, Vasan SK, Hodson L, et al. Relevance of human fat distribution on lipid and lipoprotein metabolism and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol*. 2018;29(4):285–292.
52. Shani N, Gur E, Solodeev I, et al. Mechanical apparatus and method for isolating stromal vascular fraction: U.S. Patent Application. 2018;15:579–502. [Google Scholar]
53. Van D, Tuin A, Spiekman M, et al. Comparison of intraoperative procedures for isolation of clinical grade stromal vascular fraction for regenerative purposes: a systematic review. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(1):e261–e274.
54. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT) *Cytotherapy*. 2013;15(6):641–648.
55. Michelle L, John W, Rod D. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery. *ANZ J Surg*. 2010;79(4):235–244.
56. Nguyen A, Guo J, Banyard D, et al. Stromal vascular fraction: a regenerative reality? Part 1: current concepts and review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2016;69(2):170–179.
57. Guo J, Nguyen A, Banyard D, et al. Stromal vascular fraction: a regenerative reality? Part 2: mechanisms of regenerative action. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2016;69(2):180–188.
58. Bora P, Majumdar AS. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):145.
59. Gentile P, Orlandi A, Scioli MG, et al. Concise review: adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical implications for tissue

- engineering therapies in regenerative surgery. *Stem Cells Transl Med.* 2012;1(3):230–236.
60. Gadelkarim M, Abushouk AI, Ghanem E, et al. Adipose-derived stem cells: effectiveness and advances in delivery in diabetic wound healing. *Biomed Pharmacother.* 2018;107:625–633.
 61. Maumus M, Peyrafitte J, D'angelo R, et al. Native human adipose stromal cells: localization, morphology and phenotype. *Int J Obes.* 2011;35(9):1141–1153.
 62. Gimble J, Katz A, Bunnell B. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.* 2007;100(9):1249–1260.
 63. Mills J, Cowin AJ, Kaur PJC. Pericytes, mesenchymal stem cells and the wound healing process. *Cells.* 2013;2(3):621–634.
 64. Paquet J, Moya A, Bensidhoum M, et al. Engineered cell-free scaffold with two-stage delivery of miRNA-26a for bone repair. *Ann Transl Med.* 2016;4(10):204.
 65. Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, et al. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation.* 2004;110(3):349–355.
 66. Atalay S, Coruh A, Deniz KJ. Stromal vascular fraction improves deep partial thickness burn wound healing. *Burns.* 2014;40(7):1375–1383.
 67. Cai L, Johnstone BH, Cook TG, et al. Suppression of hepatocyte growth factor production impairs the ability of adipose-derived stem cells to promote ischemic tissue revascularization. *Stem Cells.* 2007;25(12):3234–3243.
 68. Sasaki KI, Murohara T, Ikeda H, et al. Evidence for the importance of angiotensin II type 1 receptor in ischemia-induced angiogenesis. *J Clin Invest.* 2002;109(5):603–611.
 69. Kwon HM, Hur SM, Park KY, et al. Multiple paracrine factors secreted by mesenchymal stem cells contribute to angiogenesis. *Vasc Pharmacol.* 2014;63(1):19–28.
 70. Procházka V, Jurčíková J, Laššák O, et al. Therapeutic potential of adipose-derived therapeutic factor concentrate for treating critical limb ischemia. *Cell Transplant.* 2016;25(9):1623–1633.
 71. Nucera S, Bizziato D, Palma M. The interplay between macrophages and angiogenesis in development, tissue injury and regeneration. *Int J Dev Biol.* 2011;55(4–5):495–403.

72. Eto H, Ishimine H, Kinoshita K, et al. Characterization of human adipose tissue-resident hematopoietic cell populations reveals a novel macrophage subpopulation with CD34 expression and mesenchymal multipotency. *Stem Cells Dev.* 2012;22(6):985–997.
73. Li P, Lu M, Nguyen M, et al. Functional heterogeneity of CD11c-positive adipose tissue macrophages in diet-induced obese mice. *J Biol Chem.* 2010;285(20):15333–15345.
74. Van B, De J, Smits M, et al. Endothelial cells require miR-214 to secrete exosomes that suppress senescence and induce angiogenesis in human and mouse endothelial cells. *Blood.* 2013;121(19):3997–3906.
75. Miyake M, Goodison S, Urquidi V, et al. Expression of CXCL1 in human endothelial cells induces angiogenesis through the CXCR2 receptor and the ERK1/2 and EGF pathways. *Lab Investig.* 2013;93(7):768–778.
76. Newman A, Chou W, Welch RK, et al. Analysis of stromal cell secretomes reveals a critical role for stromal cell-derived hepatocyte growth factor and fibronectin in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(3):513–522.
77. Hao C, Shintani S, Shimizu Y, et al. Therapeutic angiogenesis by autologous adipose-derived regenerative cells: comparison with bone marrow mononuclear cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;307(6):H869–HH79.
78. Tzeng H, Chen P, Lin K, et al. Basic fibroblast growth factor induces VEGF expression in chondrosarcoma cells and subsequently promotes endothelial progenitor cell-primed angiogenesis. *Clin Sci (Lond)* 2015;129(2):147–158.
79. Yi E, Kim Y. Xylitol inhibits in vitro and in vivo angiogenesis by suppressing the NF- κ B and Akt signaling pathways. *Int J Oncol.* 2013;43(1):315–320.
80. Hirschi K, Skalak T, Peirce SM, et al. Vascular assembly in natural and engineered tissues. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;961(1):223–242.
81. Eyuboglu A, Uysal C, Ozgun G, et al. The effect of adipose derived stromal vascular fraction on stasis zone in an experimental burn model. *Burns.* 2018;44(2):386–396.

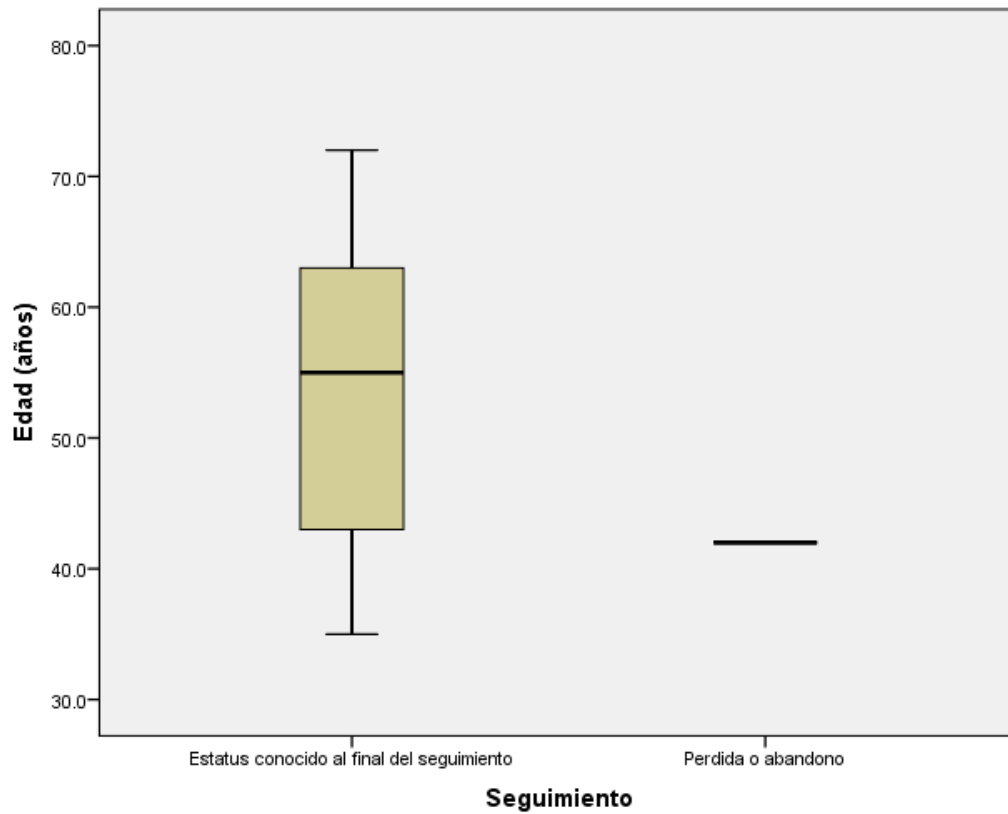
I. ANEXOS

Cuadro 1. Edad de los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

EDAD	ESTATUS CONOCIDO AL FINAL DEL SEGUIMIENTO	PERDIDA O ABANDONO	TOTAL DE PACIENTES
N	19	1	21
Media	54.0	42.0	53.4
Mediana	55.0	42.0	55.0
Desviación estándar	11.3		11.3
Mínimo	35.0	42.0	35.0
Máximo	72.0	42.0	72.0

Fuente: ficha de recolección de la información

Gráfico 1. Edad de los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.



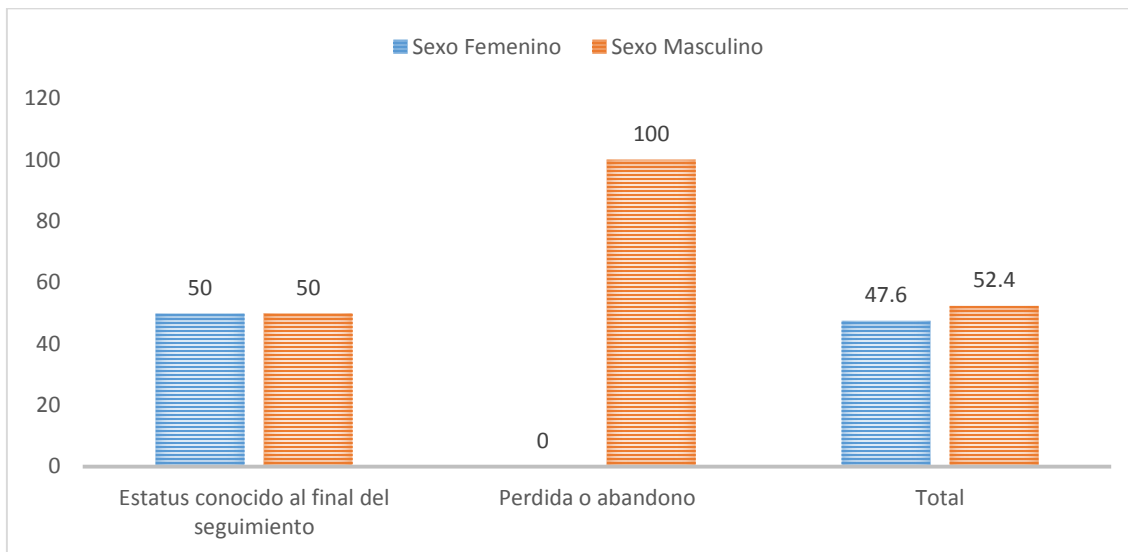
Fuente: Cuadro 1

Cuadro 2. Distribución porcentual por sexo de los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

SEGUIMIENTO							
		Estatus conocido al final del seguimiento		Perdida o abandono		Total	
		n	%	n	%	n	%
SEXO	Femenino	10	50.0	0	0.0	10	47.6
	Masculino	10	50.0	1	100.0	11	52.4
	Total	20	100.0	1	100.0	21	100.0

Fuente: ficha de recolección de la información

Gráfico 2. Distribución porcentual por sexo de los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.



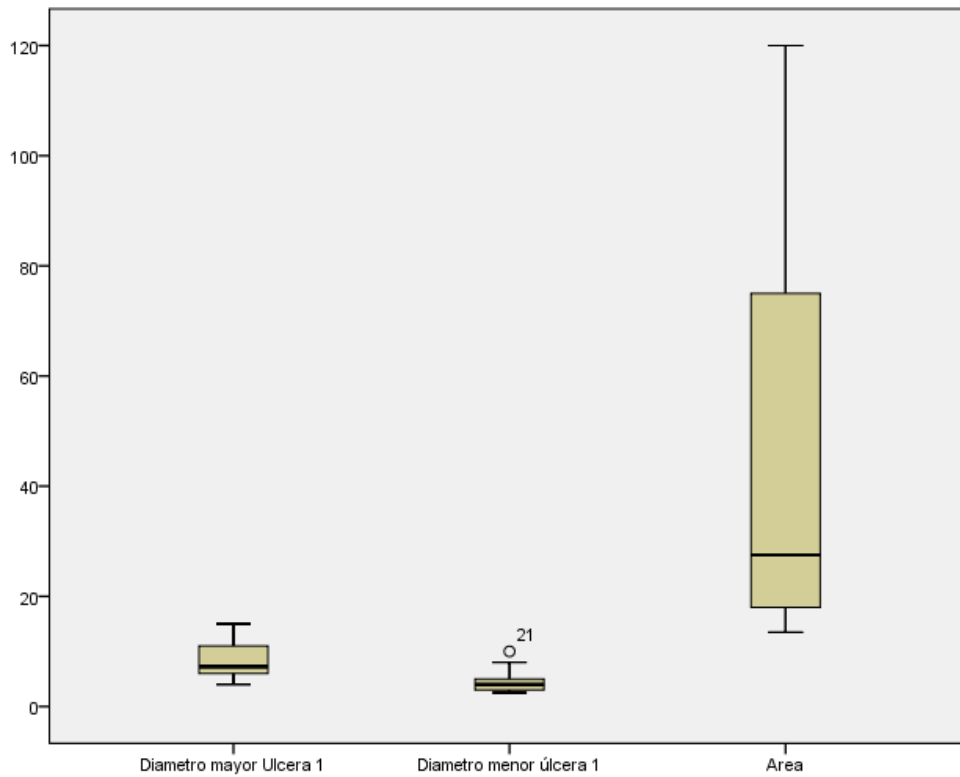
Fuente: cuadro 2

Cuadro 3. Extensión de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

		Seguimiento		
		Diámetro mayor	Diámetro	Área
N	Válido	20	20	21
Media		8.6	4.4	41.0
Mediana		7.0	4.0	26.6
DE		3.7	1.6	33.7
Mínimo		4.0	2.5	0.0
Máximo		15.0	8.0	120.0
Percentiles	25	6.0	3.0	18.0
	50	7.0	4.0	26.6
	75	12.0	5.0	67.5

Fuente: ficha de recolección de la información

Grafico 3. Extensión de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.



Fuente. Cuadro 3

Cuadro 4. Velocidad de cierre o curación de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

Estatus conocido al final del seguimiento			
		Semana de inicio	Semana de cierre
N	Válido	15	15
	Perdidos	5	5
Media		5.7	22.7
Mediana		6.0	24.0
Desviación estándar		1.5	3.3
Mínimo		2.0	20.0
Máximo		8.0	32.0
Percentiles	25	5.0	20.0
	50	6.0	24.0
	75	6.0	24.0

Fuente: ficha de recolección de la información

Grafico 4. Velocidad de cierre o curación de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.



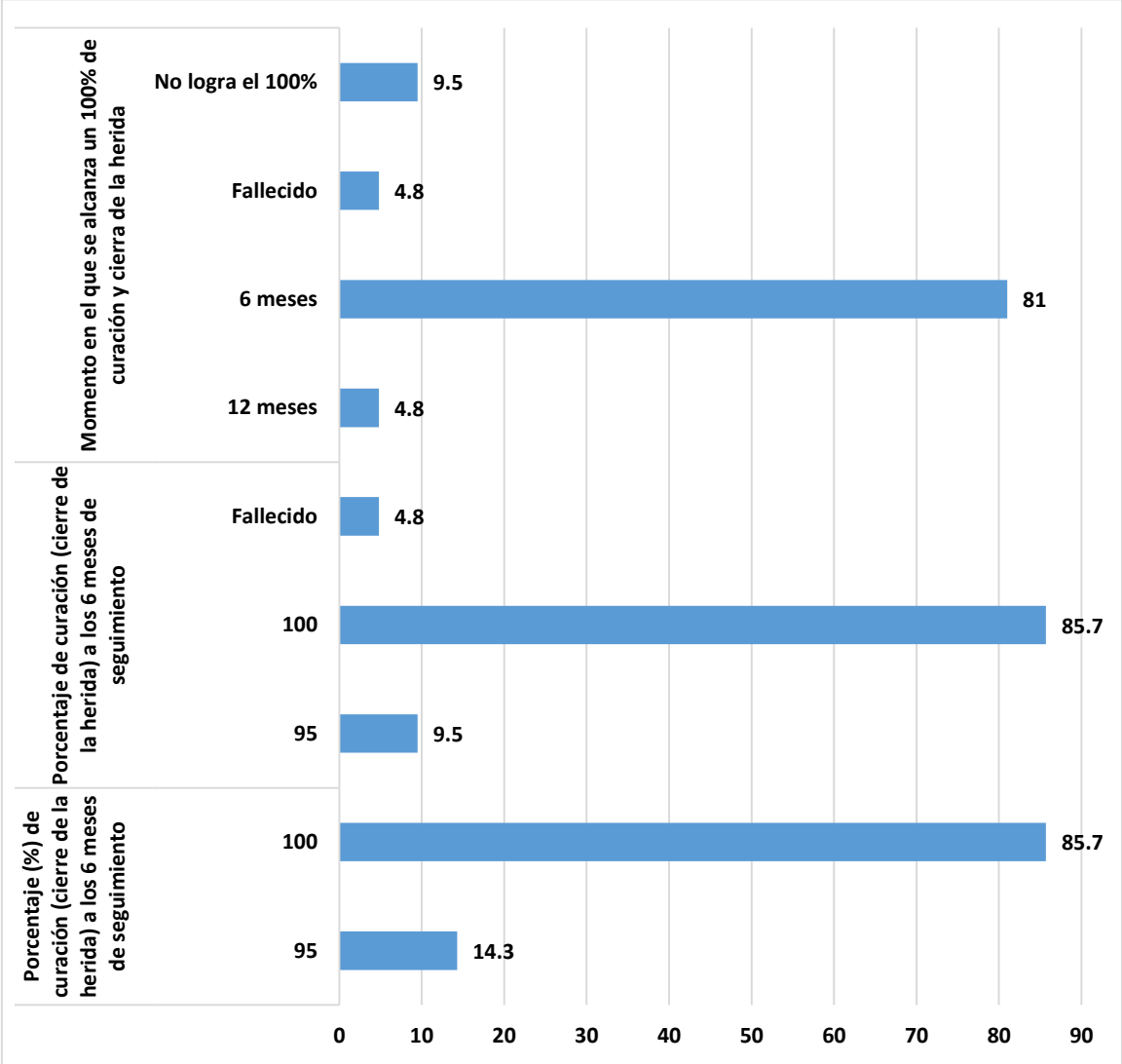
Fuente: Cuadro 4

Cuadro 5. Tasa de curación de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.

		N	%
Porcentaje (%) de curación (cierre de la herida) a los 6 meses de seguimiento	95.0	3	14.3
	100.0	18	85.7
	Total	21	100.0
Porcentaje de curación (cierre de la herida) a los 6 meses de seguimiento	95.0	2	9.5
	100.0	18	85.7
	Fallecido	1	4.8
	Total	21	100.0
Momento en el que se alcanza un 100% de curación y cierra de la herida	12 meses	1	4.8
	6 meses	17	81.0
	Fallecido	1	4.8
	No logra el 100%	2	9.5
	Total	21	100.0

Fuente: ficha de recolección de la información

Gráfico 5. Tasa de curación de la herida los pacientes con ulcera de tamaño crítico que participan en el estudio “Eficacia de la lipoinyección enriquecida con fracción vascular estromal para la cicatrización de heridas del pie diabético: estudio de un solo brazo de seguimiento de 12 meses”, en pacientes atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, 2019-2020.



Fuente: cuadro 5

Gustavo Otoniel Padilla Blandón, masculino de 63 años





Jorge Luis Jiménez, Masculino de 35 años







Paciente Augusto Cesar Calderón, masculino, 46 año de edad





