

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA.

UNAN-LEÓN.



Tesis para optar al Título de Especialista en Cirugía General.

Tema:

Terapia con Células Madres Autólogas procedente del tejido graso en pacientes con Insuficiencia Arterial de miembros inferiores, que se ingresaron en el Servicio de Cirugía, en el Hospital Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

Autor: Dr. Marlon José Ocón Benavides.
Residente de Cirugía.

Tutor: Dr. Ronald Cortez Ruiz (MB).
Cirujano General y Vascular.

Asesor Metodológico. Dr. Javier Zamora.
Epidemiólogo.

León, Febrero de 2014.

RESUMEN.

Introducción: El uso de células madres, es una opción terapéutica, ideal en algunos pacientes con trastornos degenerativos, como el mal de Parkinson, miocardiopatía, osteopatía degenerativas, así como arteriopatías como las lesiones microangiopáticas consecuencia de la diabetes y macroangiopatías.

Objetivo: Valorar la terapia con Células Madres Autólogas procedente del tejido graso, en los pacientes con Insuficiencia Arterial de miembros Inferiores que se ingresaron en el Servicio de Cirugía en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

Pacientes y métodos: diez pacientes, que se ingresaron en el tercer piso, con problemas arteriales, elegidos; por clínica, resultado doopler, escala de Leriche-Fountaine e índice tobillo brazo a los cuales, se les aplicó una ficha estructurada que comprenden al ingreso y seguimiento a los seis meses.

Resultados: según Al ingreso 90% de los pacientes, tenían un grado crítico de lesión arterial según la escala Leriche-Fountaine dando grado tres y cuatro, y a los seis meses se notó que el 80% de los mismo, podían caminar más de 300 metros para una reducción en la escala a dos a. y que el 70% ingresó con un índice tobillo brazo crítico menos de 0,5 y que a los seis meses y que un 70% había mejorado de 0,5 a 0,9 casi buscando a la normalidad.

Conclusiones: La terapia con células madres resulta eficaz debido a que los pacientes estudiados mejoraron en la cicatrización de las úlceras incluidas en la escala de Leriche-Fountaine así como la mejoría notada en el índice tobillo brazo.

DEDICATORIA.

A Dios.

Por Iluminarme, guiarme en mi Trayectoria Profesional.

A mis Padres.

Por el Apoyo Incondicional que me han brindado, en todo mí que hacer.

A mis Maestros.

Por la Gran Disposición en haberme enseñado todo lo que he aprendido, por guiarme en el sendero del desempeño en esta residencia.

AGRADECIMIENTO.

A todas las personas que de una u otra forma han contribuido de forma directa e indirecta para culminar mi residencia, así como a la realización de este trabajo

Al grupo **GIB**, Dr. Carstens, Dr. Arturo Gómez entre otros, el cual de no haber sido por ellos, no se hubiese hecho el procedimiento del injerto de células madres autólogas en los pacientes con insuficiencia arterial de este hospital.

Tema:

Terapia con Células Madres Autólogas procedente del tejido graso en pacientes con Insuficiencia Arterial de miembros inferiores, que se ingresaron en el Servicio de Cirugía, en el Hospital Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

Índice.

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	3
3. Justificación.....	6
4. Planteamiento del problema.....	8
5. Objetivos.....	9
6. Marco Teórico.....	10
7. Diseño Metodológico.....	14
8. Operacionalización de Variables.....	16
9. Resultados.....	19
10. Discusión de Resultados.....	33
11. Conclusiones.....	38
12. Recomendaciones.....	40
13. Bibliografía.....	41
14. Anexos.....	44

Introducción.

A pesar de la capacidad regenerativa de la mayoría de los tejidos del cuerpo, existen algunas lesiones o enfermedades como; el mal de Parkinson, la diabetes mellitus, las alteraciones cardiacas y las enfermedades osteodegenerativas y nerviosas, que provocan un daño irreversible en las células afectadas, haciendo que el correspondiente órgano o tejido pierda su funcionalidad.¹

El uso de las células madre representa una opción innovadora y prometedora para resolver muchos de los problemas clínicos mencionados² asegurando un suficiente número de células específicas del tejido, eliminando la morbilidad del sitio donante y los problemas de rechazo inmunológico.^{3,4} Estas células han generado oportunidades significativas para la ingeniería de injertos adecuados para la regeneración de tejidos. Las Células madres están definidas; como poblaciones celulares que tienen la capacidad de autorenovarse y diferenciarse en uno o más tipos de linajes especializados.⁵ El creciente interés sobre las Células madres ha creado interés para la regeneración de las células más primitivas como las neuronas, los cardiomiocitos, las células de cartílago y hueso, entre otras.^{6,7}

Las células madre se emplean actualmente en medicina regenerativa y se espera que en un futuro más o menos próximo se puedan utilizar en el tratamiento de enfermedades como; la diabetes, enfermedades cardiovasculares, lesiones medulares y enfermedades neurológicas.⁸ Todo parece indicar que la medicina del futuro estará ligada a la medicina regenerativa y a la utilización de células madre autólogas.

La aplicación de la terapia celular regenerativa en los Pacientes con isquemia Vascular, resulta efectiva en los pacientes que están en estadios menos avanzados así como en los estadios críticos cuando solo existe dolor de reposo, la desaparición del dolor es relativamente rápida y la mejoría del estado clínico y la calidad de vida del enfermo se hace manifiesta Por la angiogénesis resultante.⁹

Antecedentes.

En Nicaragua, no se cuenta con estudios previos con el uso de Células madres Autólogas por lo que solo se cuenta con estudios realizados en otros Países.

En el estudio de Fernández et al. 2009. Los resultados obtenidos señalaron que en los casos con isquemia crónica de miembros inferiores, la aplicación de la terapia celular regenerativa resulta más efectiva cuando los pacientes están en estadios menos avanzados de la enfermedad, así como en los estadios críticos cuando solo existe dolor de reposo, la desaparición del dolor es relativamente rápida y la mejoría del estado clínico y la calidad de vida del enfermo se hace manifiesta. Por otra parte, en los casos con claudicación intermitente invalidante, en que los tratamientos habituales o convencionales no detienen la progresión a etapas más avanzadas con alto riesgo de amputación, los resultados positivos que hemos obtenido en más del 85 % de los casos ejemplifican los beneficios de la aplicación precoz de la terapia celular regenerativa y de la efectividad del empleo de células madre hematopoyéticas adultas. Además, se observó que, tanto la administración intramuscular de las células como su inyección por vía intra arterial, fueron muy efectivas.⁹

A partir de los estudios de Flame I et al. 1992, evidenciaron muestras que dentro de la médula ósea existe un progenitor común para las células hematopoyéticas y endoteliales: el hemangioblasto,^{10,12} identificado por la expresión del antígeno de superficie AC133. Estas, co expresan también el antígeno CD34, aunque existe un pequeño porcentaje que son CD34 negativas.¹²

Recientemente, Tateishi-Yuyama et al. 2002. Publicaron que la inyección de células mononucleadas de Medula ósea mejora la isquemia en miembros inferiores en humanos en un estudio controlado, enroló a 45 pacientes con isquemia crónica, de los cuales 31 con DM, y 25 pacientes recibieron tratamiento con aspirado de medula ósea concentrado, aplicando inyecciones en los músculos gemelos. Después de cuatro semanas, los pacientes mejoraron sus índices tobillo-brazo así como la presión de oxígeno transcutáneo. En los resultados clínicos, se observó que en la mayoría hubo mejoría en el dolor en reposo, curación de úlceras y salvataje de amputaciones. Debido al aporte de células progenitoras endoteliales y la secreción de factores angiogénicos y/o citosinas,¹³ la evidencia de que la inducción de nuevos vasos en tejidos in vivo, a partir de células madre de la medula ósea, es posible, puede ser debida a los hemangioblastos.

En los estudios de Barros et al. 2007. En tres casos donde se usaron células madre provenientes de la medula ósea se pudo determinar que los resultados aunque preliminares son esperanzadores; en todos los casos la valoración del procedimiento (movilización, recolección e inyección de las células) ha transcurrido sin morbi/ mortalidad alguna; pero lo más relevante es la favorable evolución a medio-largo plazo, tanto objetiva (casos 1 y 2) como subjetiva.¹⁴

Posteriormente, Huang et al. 2005. en 28 pacientes utilizaron células mononucleares de sangre periférica previamente estimuladas con factor estimulante de granulocitos en pacientes diabéticos con isquemia en miembros inferiores. Después de tres meses de seguimiento los pacientes manifestaron mejoría en sus síntomas, índices tobillo-brazo. En el grupo trasplantado las úlceras curaron en un 77,8% y no hubo amputaciones, mientras que en el grupo control las úlceras curaron en solo 38,9% y cinco fueron amputados. Este trabajo mostró que el trasplante autólogo de células mononucleares movilizadas con G-

CFS recombinante es una nueva terapia segura, simple y efectiva para pacientes diabéticos con isquemia crónica en miembros inferiores.¹⁵

Muñoz et al. 2008, estudiaron 13 pacientes, divididos en dos grupos, al grupo I (n=5) se le suministró tratamiento médico e infiltración con albúmina al 5% sin células madre, al grupo II (n = 8) se le trasplantaron células progenitoras endoteliales por vía intramuscular en el miembro inferior afectado; para distinguir si la neoangiogénesis se debía a la diferenciación de las células progenitoras endoteliales o a un proceso inflamatorio local inducido por los elementos trasplantados. El resultado obtenido fue, comparando, el grupo I mejoró clínicamente en 50% y en la oximetría transcutánea, estadísticamente significativa; en el grupo II se observó mejoría en todos los parámetros, estadísticamente significativa. Llegando a las conclusiones: este estudio muestra un importante avance en el tratamiento con células madre hematopoyéticas en pacientes que no tienen otra alternativa para mejorar su calidad de vida.¹⁶

Justificación.

Una de cada cinco hospitalizaciones de pacientes diabéticos se debe a lesiones en el pie y el tiempo de hospitalización se incrementa por encima de cualquier otra complicación de la diabetes. El riesgo de amputación es 15 veces mayor que en individuos no diabéticos.^{2,4} La arteriopatía se presenta en 80% de los pacientes diabéticos con más de 10 años de evolución. La finalidad del tratamiento del pie diabético es el salvamento del pie, de la extremidad, es decir evitar la amputación. Su manejo es uno de los retos más difíciles a los que se enfrenta el médico en la práctica clínica, Desde el primer contacto se deben emplear todos los recursos terapéuticos disponibles.

Las investigaciones básicas y clínicas realizadas en los últimos años sobre las células madre y sus posibilidades terapéuticas, son en la actualidad uno de los temas más excitantes de la medicina contemporánea. Ya se han obtenido importantes avances en el estudio y aplicación de las células madre adultas que muestran notables ventajas sobre las embrionarias, pues su manipulación resulta más simple, económica y se pueden obtener del propio individuo que va a ser tratado. Por ello se pretende valorar la seguridad y eficacia en los Pacientes En los que tienen una arteriopatía significativa en donde una de las grandes posibilidades que se les oferta es la amputación, es por lo que con esta nueva modalidad; que consiste en la aplicación de células madres Autólogas es pretender Mejorar el estilo de vida, así como rescatar el miembro afectado, con esta prometedora y nueva opción terapéutica.^{16,17}

EL uso de Células madre es una de las áreas más fascinantes de la biología actual, pero como tantos otros campos en desarrollo de la ciencia, las

investigaciones en células madre generan tantas preguntas como nuevos descubrimientos.¹⁷

Es por ello que, se pretende valorar esta modalidad terapéutica aplicada en unos pacientes del servicio de cirugía, en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello, para determinar qué tan efectiva resulten ser.

Planteamiento del Problema.

¿Cuál es el efecto de la Terapia con Células Madres Autólogas procedente del tejido graso en pacientes con Insuficiencia Arterial de miembros inferiores, que se ingresaron en el Servicio de Cirugía, en el Hospital Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014?

Objetivo General.

Valorar la terapia con Células Madres Autólogas procedente del tejido graso, en los pacientes con Insuficiencia Arterial de miembros Inferiores que se ingresaron en el Servicio de Cirugía en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

Objetivos Específicos.

1. Caracterizar demográficamente a los pacientes con insuficiencia arterial que recibieron la terapia con células madres Autólogas procedente del tejido graso.
2. Evaluar las características clínicas en los pacientes con insuficiencia arterial de miembros inferiores a los que se les aplicó células madres Autólogas antes y durante el procedimiento.
3. Determinar en qué escala de la clasificación de Leriche Fountaine y el Índice Tobillo brazo están los pacientes con insuficiencia arterial antes y después de que se les administró la terapia con células madres autólogas.

Marco Teórico.

Las Células Madres son; Son células que tienen la capacidad de diferenciarse y originar células de la sangre y del sistema inmunológico así como también dar origen a células de diferentes tejidos y órganos como las células del sistema nervioso, del páncreas, hígado, corazón, vasos sanguíneos, hueso, cartílago, tejido adiposo y otros tipos celulares. Se espera que en un futuro cercano las células madres se utilicen para reparar daños cerebrales (derrames), lesiones de médula espinal, generar nuevos vasos sanguíneos y tratar enfermedades crónicas devastadoras para la sociedad como lo son el Alzheimer, el Parkinson, la Diabetes, enfermedades hepáticas y distrofia muscular.¹⁷

El avance en las investigaciones sobre células madre está ampliando el campo del conocimiento acerca de cómo un organismo se desarrolla desde una simple célula, hasta de qué modo células sanas reemplazan a células dañadas. Esta promisorio área de la ciencia está impulsando a los científicos a investigar las posibilidades de aplicar terapias celulares para tratar enfermedades, las cuales son referidas como medicina reparativa o medicina regenerativa.¹⁷

Estas células han generado oportunidades significativas para la ingeniería de injertos adecuados para la regeneración de tejidos. Las Células Madres están definidas como poblaciones celulares que tienen la capacidad de autorenovarse y diferenciarse en uno o más tipos de linajes especializados.^{17,18} El creciente interés sobre las Células Madres ha creado una disciplina capaz de explorar la regulación de los procesos de diferenciación celular desde las células más primitivas hacia las células completamente diferenciadas como las neuronas, los cardiomiocitos, las células de cartílago y hueso, entre otras.¹⁸

Las células madre tienen dos características importantes que las distinguen de otros tipos de células. La primera de ellas es que son células no especializadas que se renuevan ilimitadamente. La segunda es que bajo ciertas condiciones fisiológicas o experimentales, se las puede inducir a que se conviertan en células con funciones especiales tales como células musculares cardíacas o células de páncreas que produzcan insulina. Este tipo de células las podemos clasificar en células madre embrionarias y células madre adultas, que poseen diversas funciones y características.^{15,17}

Las células madre son importantes para los organismos vivos por muchas razones. En algunos tejidos adultos, tales como la médula ósea, músculo, y cerebro, pequeñas poblaciones definidas de células madre adultas pueden migrar y reemplazar a las células que se pierden en diferentes órganos como resultado de un desgaste normal, por lesiones o enfermedades.

Toda célula madre (sin importar su origen) tiene tres características generales: son capaces de dividirse y de renovarse por períodos largos; son no especializadas; y pueden dar lugar a tipos especializados de célula.

Una de las características fundamentales de una célula madre es que no tiene ninguna estructura de tejido específica que le permita realizar funciones especializadas. Una célula madre no puede trabajar con sus células vecinas para bombear sangre a través del cuerpo (como una célula del músculo del corazón); no puede llevar las moléculas de oxígeno a través de la circulación sanguínea (como una célula de la sangre); y no puede encender señales electroquímicas a otras células que permitan que el cuerpo se mueva o hable (como una neurona). Sin embargo, las células madre no especializadas pueden dar lugar a células

especializadas, incluyendo las células del músculo del corazón, las células de la sangre, o las neuronas.^{12,17}

Las enfermedades osteodegenerativas como la osteoporosis, la artritis y las lesiones de los discos articulares o intervertebrales; así como los altos índices de accidentalidad (que para el año 2006 dejaron 94.322 heridos entre leves y graves),⁽²⁾ que generan lesiones con grandes pérdidas de fragmentos óseos, tienen un efecto devastador en el bienestar y la calidad de vida de los pacientes. Los procedimientos clínicos disponibles, tienen un uso limitado debido a la morbilidad del sitio donante, en el caso de los autoinjertos; o por el rechazo inmune o la baja capacidad regenerativa, en el caso de los aloinjertos o xenoinjertos.³ Todas estas limitaciones han llevado a la búsqueda de nuevas formas de restituir los procesos biológicos que han resultado afectados, bien mediante el aporte de precursores celulares sanos, en procesos conocidos como terapias celulares, o la aplicación de factores de crecimiento producidos normalmente por tales células.⁴

El uso de las células madre representa una opción innovadora y prometedora para resolver muchos de los problemas clínicos mencionados⁵ asegurando un suficiente número de células específicas del tejido, eliminando la morbilidad del sitio donante y los problemas de rechazo inmunológico.^{6,7}

Estas células han generado oportunidades significativas para la ingeniería de injertos adecuados para la regeneración de tejidos. Las Células Madres están definidas como poblaciones celulares que tienen la capacidad de autorenovarse y diferenciarse en uno o más tipos de linajes especializados.⁸ El creciente interés sobre las Células Madres ha creado una disciplina capaz de explorar la regulación de los procesos de diferenciación celular desde las células más primitivas hacia

las células completamente diferenciadas como las neuronas, los cardiomiocitos, las células de cartílago y hueso, entre otras.^{9,10}

Por otra parte, la demostración, tanto experimental como en humanos, de que las células madre adultas obtenidas a partir de tejidos específicos, como la médula ósea, el tejido adiposo y el cordón umbilical, la sangre periférica, el cerebro, los vasos sanguíneos, el músculo esquelético, la córnea, la pulpa dental, el hígado, la piel, el tracto gastrointestinal, el páncreas, tienen una capacidad regenerativa mucho mayor a la que previamente se pensaba, abre un nuevo campo en el área de la medicina regenerativa.^{7,11,12} En condiciones normales, en los tejidos específicos, estas células tienen gran capacidad para renovarse después de traumas, enfermedades o envejecimiento.¹³

Diseño Metodológico.

El presente trabajo investigativo, es un estudio Descriptivo, cuya población de estudio comprendieron los pacientes ingresados en el Tercer piso de cirugía con el diagnóstico de insuficiencia arterial. En el periodo comprendido 2013 a 2014.

Área de estudio: departamento de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello.

Tiempo de Estudio: Marzo de 2013 a Diciembre 2014.

Población de estudio: Fueron 10 Pacientes, Intervenido con la terapia con células madres autólogas en el departamento de cirugía en el tiempo de estudio.

Criterios de Inclusión.

- Pacientes que aceptaron el procedimiento quirúrgico el cual firmaron consentimiento informado para aceptar el procedimiento.
- Pacientes con insuficiencia arterial micro vascular y macro vascular.
- Pacientes que tuvieran grado IIb a IV según Leriche Fountaine.
- Paciente que no tuvieran comorbilidades que pusieron en riesgo la vida del paciente siendo ello cardiopatas agudos, cáncer, o condición con un pronóstico de vida menos de seis meses.
- Paciente con creatinina mayor de 2.

Criterios de Exclusión.

- Pacientes, que no deseen por su propia voluntad seguir participando en el estudio.

Fuente de Información: Primaria, se estudió a los pacientes personalmente a través de un llenado de ficha.

Procesamiento de la Información: Por medio de la ficha estructurada, donde se recopilaron los datos de interés para dar cumplimiento a los objetivos. Se introdujeron los datos a una base de datos en el programa SPSS versión 20, obteniendo los resultados en tablas de frecuencia y porcentaje. Se realizaron gráficos de barra y pastel, así como estimación de promedio, valor mínimo y valor máximo.

Aspectos Éticos: se pidió autorización para el presente trabajo al director del Hospital Oscar Danilo Rosales Arguello, Dr. Ricardo Cuadra, al jefe del departamento; Javier Pastora. Así como consentimiento informado por escrito a cada paciente, estando claro ellos, siendo un estudio descriptivo con el propósito de darles seguimiento posterior a la aplicación de células madres que recibieron los paciente en el quirófano del tercer piso de esta unidad hospitalaria. Se revisaron los criterios de Helsinky.

Operacionalización de las Variables.

Variable	Definición	Escala.
Edad	Tiempo Medido en años que tiene una persona desde el nacimiento hasta el momento del estudio	Menor o igual a 60 Mayor de 60
Sexo	Condición fenotípica que distingue a los individuos.	Masculino Femenino
Procedencia	Lugar de residencia del paciente.	Urbano. Rural.
Escolaridad	Nivel académico aprobado por el paciente el cual se categorizara según:	Analfabeta. Primaria Incompleta. Primaria Completa. Secundaria Incompleta. Secundaria Completa. Universitarios.
Estado Civil	Estado conyugal de los individuos al momento del estudio.	Soltero. Acompañado. Casado. Viudo.
Comorbilidades	Patologías crónicas que el paciente presentó al momento del estudio	Diabetes. Hipertensión Arterial. Cardiópata. Asmático. Epiléptico. Otras.
Presencia de Úlceras en los Miembros Inferiores.	Pacientes que tienen pérdida de la continuidad de la piel, ocasionada por la arteriopatía.	Sí. No.
Tipo de Insuficiencia Arterial	Insuficiencia arterial Microvascular; aquellos Pacientes que tenían arteriopatía consecuencia de la Diabetes. Insuficiencia Arterial Macrovascular; son los pacientes que tenían arteriopatía debido a la aterosclerosis.	Microvascular. Macrovascular.

Reacciones Adversas durante y después del procedimiento	Eventos no deseados que los pacientes presentaron durante se les ha practicado la liposucción y el injerto de células madres.	Aumento de la presión arterial. Aumento de la frecuencia Cardiaca. Tos. Sangrado. Dolor. Otros
Pacientes Hospitalizados después del procedimiento.	Pacientes que se internaron en el hospital del tercer piso para manejo de las úlceras y/o gangrena.	Sí. No.
Lavados quirúrgicos.	Número de lavados quirúrgicos realizados a los pacientes.	Menos de cinco. Más o igual a Cinco.
Número de células madres aplicadas	Total de células madres que se le aplicaron a los pacientes, se cuantificará.	Menos de 50 millones. De 50 millones a 150 millones. De 150 millones a 250 millones. De 250 millones a 500 millones. 500 millones a más.
Punciones en los gastrocnemios	Número de punciones que se les realizó a los pacientes en los gastrocnemios.	Menos de Diez. Más o Igual a diez.
Punciones Peri Lesionales.	Número de punciones que se les realizó a los pacientes Peri lesión	Menos de cinco. Más o igual a Cinco.
Clasificación de Leriche Fountaine	Clasificación que categoriza a los pacientes que tenían insuficiencia arterial.	GRADOS Grado I: Lesión asintomática. Grado II: Claudicación intermitente. IIa a más de 150 mts IIb menos de 150 mts. Grado III: Dolor en reposo Grado IV: Úlcera y gangrena . La cual se midió al ingreso, al mes, y seis meses.

Índice Brazo.	Tobillo	Presión sistólica medida del miembro inferior (tobillo) sobre la presión sistólica del brazo del mismo lado. La cual se midió al ingreso, al mes, y seis meses.	Menos de 0,5. De 0,5 a 0,9. De 1 a 1,5. Mayor de 1,5.
Reacción después del procedimiento.		Eventos no deseados que el paciente presentó durante se les practicó la liposucción y el injerto de células madres.	Aumento de la presión arterial. Aumento de la frecuencia Cardíaca. Tos. Sangrado. Otros.
Mejoría de la Úlcera.		Cicatrización de la falta de continuidad de la piel ocasionada por la arteriopatía, después del procedimiento. Siendo esta aceptable cuando se tenga más del 90% de mejoría en la úlcera.	Sí. No.
Cambios imagenológicos		Cambios significativos en estudios de AngioTAC, desde el ingreso y a los seis meses posterior a la angioTAC.	Si Hay Cambios. No Hay cambios.

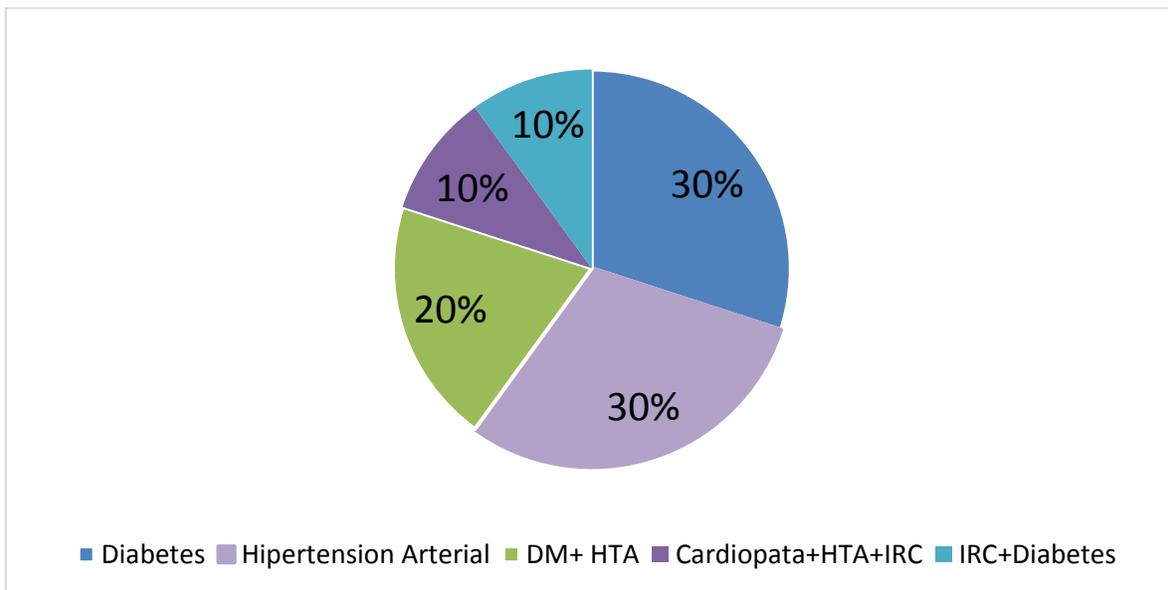
RESULTADOS

Tabla 1: Características sociodemográficas de los pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia con Células Madres Autólogas Proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

<i>Variable</i>	<i>Numero</i>	<i>Porcentaje</i>
Edad		
• Menor de 60 años	1	10
• De 60 años a Más.	9	90
TOTAL	10	100
Sexo		
• Femenino	9	90
• Masculino	1	10
TOTAL	10	100
Procedencia		
• Rural	0	0
• Urbana	10	100
TOTAL	10	100
Escolaridad		
• Analfabetismo	3	30
• Primaria	5	50
• Secundaria	1	10
• Educación Superior	1	10
TOTAL	10	100
Estado civil		
• Soltero	2	20
• Acompañado	2	20
• Viudo	6	60
TOTAL	10	100
n=10		

En la tabla 1, se observa que el grupo etéreo predominante es el mayor de 60 años con 90%, con una media de 78 años, un mínimo de 57 años, y una edad máxima de 85 años. Se observa el sexo predominante siendo el femenino con un 90%. Con respecto a la procedencia el 100% es de origen urbano. La escolaridad de los pacientes se observa con un nivel primario con un 50%, un 30% de analfabetismo, un 10% con nivel secundario y universitario respectivamente.

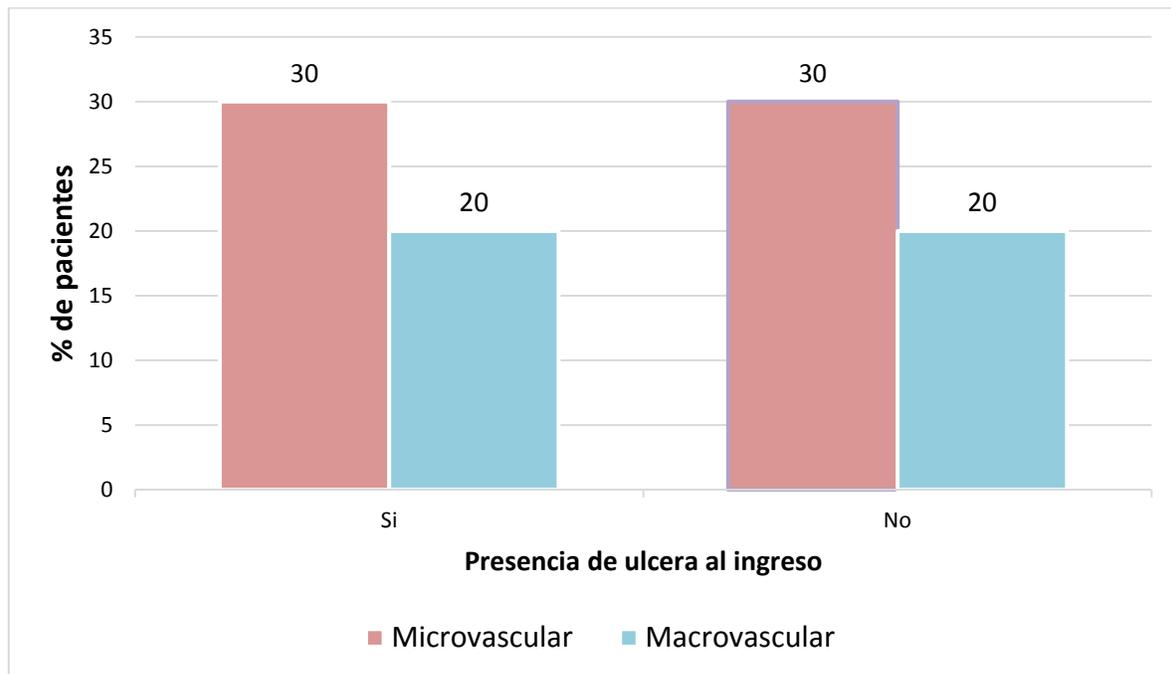
Gráfico 1: Comorbilidades de los pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia con Células Madres Autólogas Proveniente del tejido Adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.



n=10

En el gráfico 1, se observa que el 30% padecía de Diabetes Mellitus, otro 30% padecía de Hipertensión Arterial, un 20% padece de ambas patologías y 10% padecía de Hipertensión asociado a insuficiencia renal crónica y tenía una cardiopatía crónica.

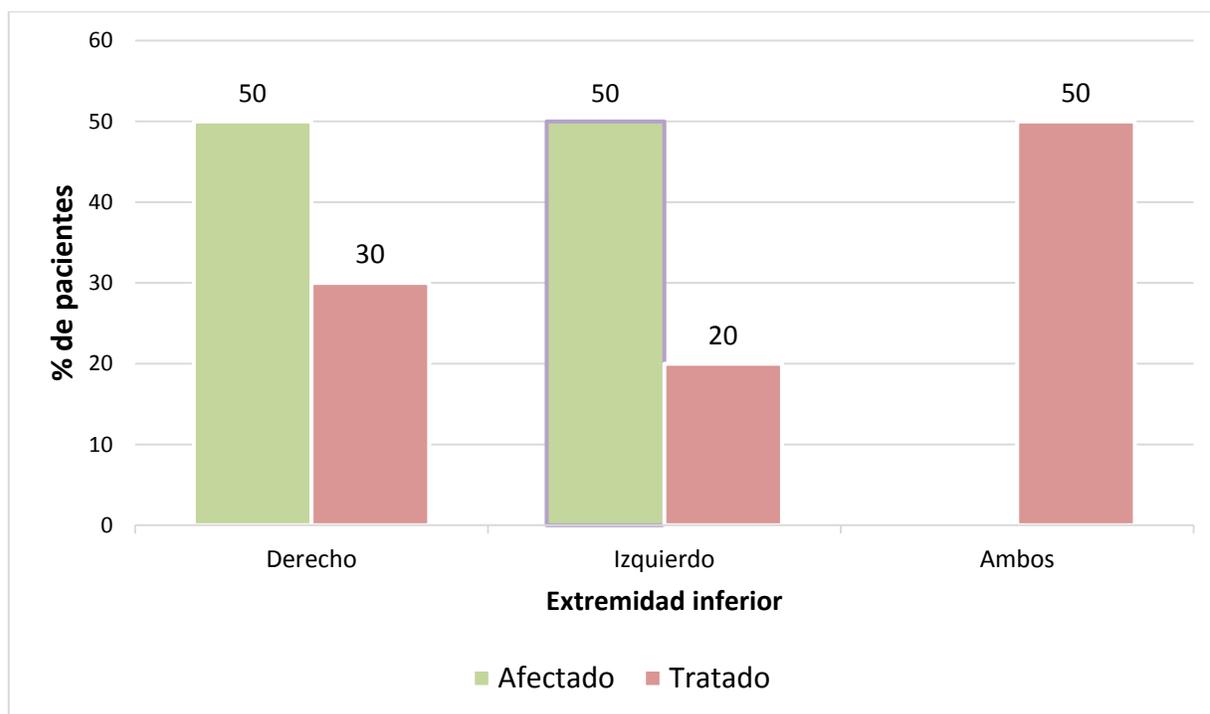
Gráfico 2: Tipo de Insuficiencia arterial en los pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia con Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales en el periodo 2013-2014.



n=10

En la gráfica 2, se observa la clasificación de insuficiencia arterial que padecen los pacientes en estudio. De igual manera se observa la presencia de úlceras en los pacientes. Pacientes con insuficiencia arterial microvascular se observa con un 60% con úlcera presente, un 30% de ellos presentaron úlcera y el otro 30% no presentaron. De igual manera se observa un 40% padece de insuficiencia arterial de tipo macrovascular, teniendo un 20% la presencia de úlcera, y otro 20% no fue observada.

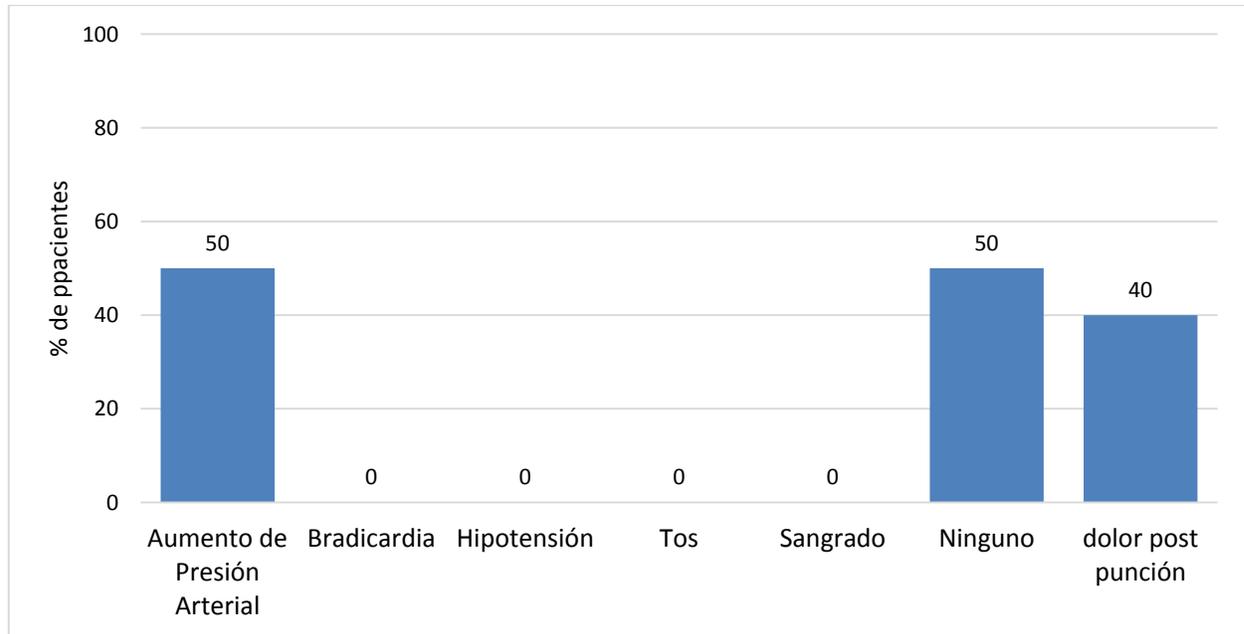
Gráfico 3: Miembro afectado y tratado en pacientes con Insuficiencia arterial que recibieron terapia con Células Madres Autólogas Proveniente del tejido Adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.



n=10

En la gráfica 3, se observa los miembros afectados, el 50% tenía afectado el miembro derecho, y el otro 50% el miembro izquierdo. Al recibir la terapia, un 30% recibió solo en el miembro derecho, solo un 20% únicamente en el izquierdo; y el otro 50% recibieron terapia en ambas extremidades. cinco de los pacientes que tenían afectación en pie derecho se les administró solo a ese miembro a 3 pacientes, a los otros dos, por tener compromiso en el otro miembro se les administró am ambos miembros inferiores igual ocurrió para con los que tenían afectaciones en el pie Izquierdo.

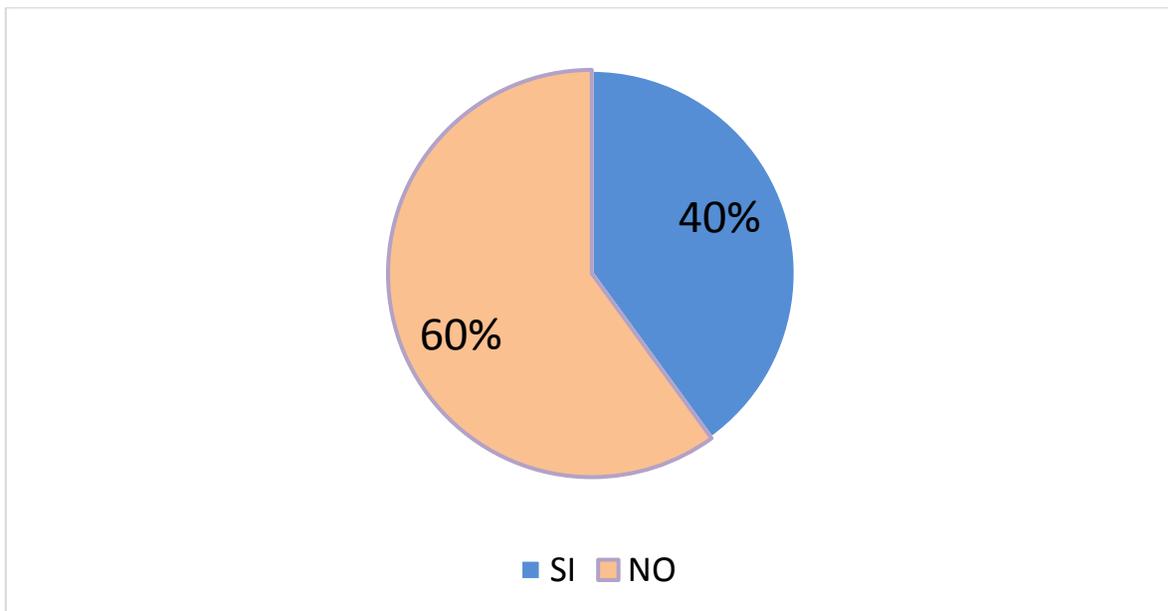
Gráfico 4: Reacciones adversas en los pacientes con Insuficiencia arterial que recibieron terapia con Células Madres Autólogas Proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.



n=10

En el gráfico 4, están reflejadas las reacciones observadas comunes en los pacientes que recibieron la terapia con células madres, un 50% cursaron con aumento de la presión arterial, y un 50% no tuvieron reacciones. Se evaluaron otras reacciones, pero no se observaron en los pacientes. Cuatro de los diez pacientes, a los que se les administró células madres, presentaron dolor posterior del procedimiento coincidiendo que cuatro de estos pacientes recibieron más de diez punciones y se les trató ambos miembros Inferiores.

Gráfico 5: Hospitalización posterior a la terapia con Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo en pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.



n=10

En la gráfica 5, se observa que el 60% de pacientes que recibieron la terapia con células madres no necesitaron hospitalización posterior al procedimiento. Un 40% tuvo que hospitalizarse para manejo de la úlcera y/o isquemia.

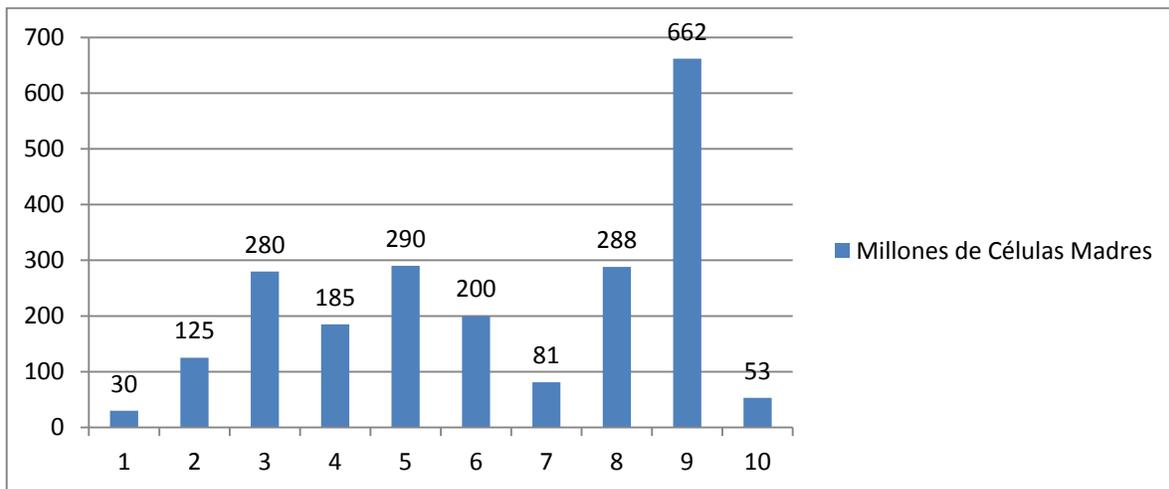
Tabla 2: Cantidad de Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo que recibieron los pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello, en el periodo 2013-2014.

Cantidad	Número	Porcentaje
Menos de 50 millones	1	10
De 50 millones a 150 millones	3	30
De 150 millones a 250 millones	2	20
De 250 a 500 millones	3	30
Más de 500 millones.	1	10
Total	10	100

n=10

La cantidad de células madres que recibieron los pacientes fue: 50 millones solo una paciente para un 10%, de 50 millones a 150 millones, tres para un 30%, de 150 millones a 250 millones, dos para un 20%, de 250 millones a 500 millones fueron tres para un 30% y más de 500 millones un paciente para un 10%.

Gráfico 6: Detalle de cantidad de Células Madres Autólogas proveniente de tejido adiposo, que recibieron los pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.



En el gráfico N° 6; se puede evidenciar en detalle la cantidad de células madres que recibieron los diez pacientes, procedente del tejido adiposo de los mismos. Donde se evidencia los rangos en los que oscilaron, notándose que el paciente que tuvo menos células madres, fue el número uno con 30 millones, así como el que más células madres tenía, fue el número nueve con 662 millones.

Tabla 3: Punciones de Gastrocnemios y perilesionales realizadas en pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia de Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

Cantidad	Número	Porcentaje
Punción en gastrocnemios		
• Menos de 10	3	30
• Mayor o igual que 10	7	70
Total	10	100
Punción perilesional		
• Menos de 5	0	0
• Mayor o igual a 5	4	40
• No aplica	6	60
Total	10	100

n=10

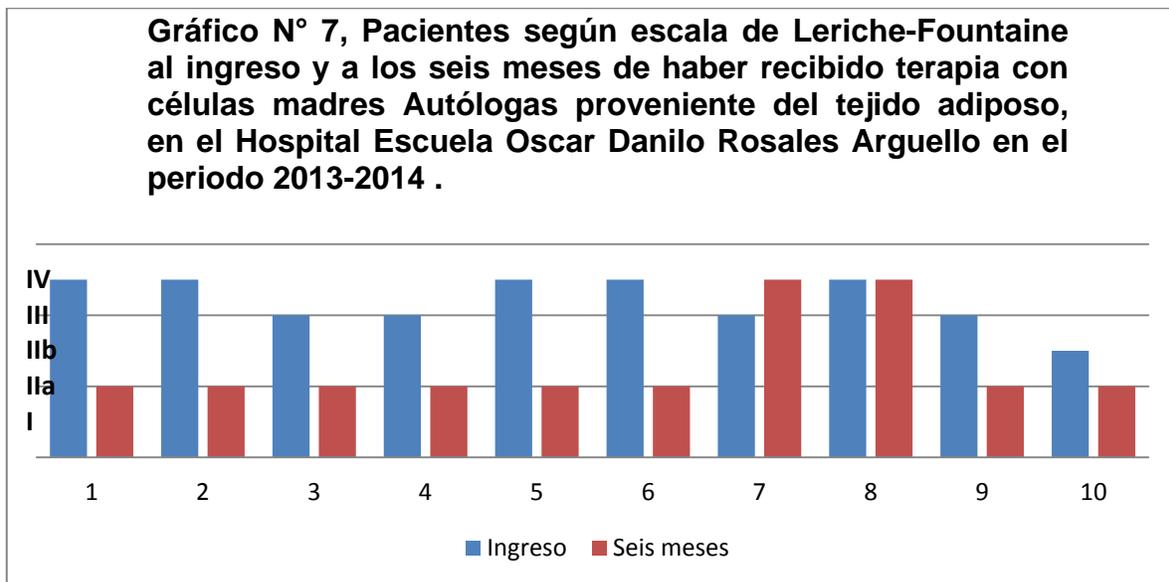
En la tabla 3, se observa las punciones que se realizaron a los pacientes en la terapia de células madres, con respecto a la punción de los músculos gastrocnemios se observa que en un 70% se realizaron más de 10 punciones, y solo en un 30% se realizaron menos del 10 punciones. Con las puncione perilesionales, el 40% recibió de cinco a mas punciones perilesional, esto debido a que presentaban Úlceras en el miembro Afecto, el 60% restantes no se les administró porque no tenían Úlceras.

Tabla 4: Clasificación de Leriche Fountaine en los pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia de Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

Grado	Al ingreso		A los 6 meses	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
• Grado I asintomática	0	0	0	0
Grado de Claudicación intermitente				
• II a más de 150 metros	0	0	8	80
• II b menos de 150 metros	1	10	0	0
• Grado III dolor en reposo	4	40	0	0
• Grado IV Úlcera o gangrena	5	50	2	20
Total	10	100	10	100

n=10

En la tabla 4, se observa la clasificación de Leriche Fountaine de Insuficiencia arterial en los pacientes que recibieron terapia al ingreso y a los 6 meses posteriores al procedimiento. Un 50% tuvieron al ingreso una úlcera grado IV, un 40% con dolor al reposo (Grado III), y un 10% un tipo grado IIb con claudicación y dolor al caminar menos de 150 metros. Notándose también que a los seis meses, solo el 20% de la población tenían Úlceras, y que un 80% había mejorado a una clasificación dos a.

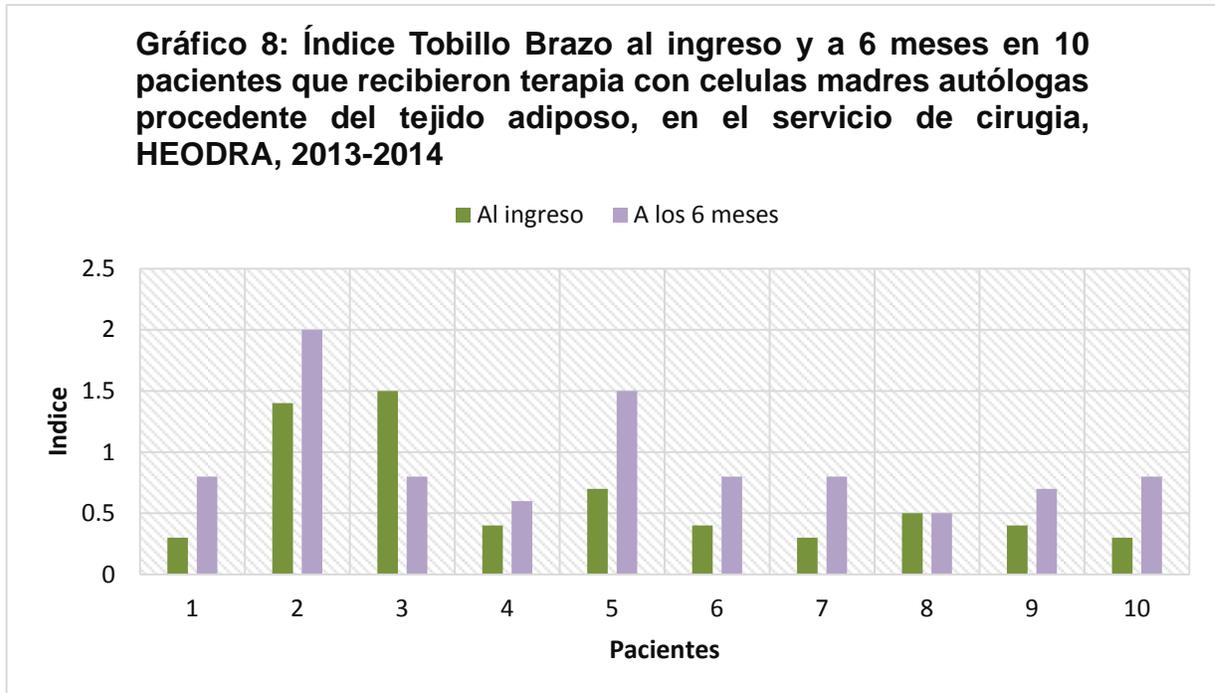


En el gráfico N° 7 se puede determinar a los paciente a como ingresaron según el índice de Leriche Fountainie, donde se les dio a los pacientes un numero al azar de 1 a 10 en el cual se puede evidenciar la mejoría significativa que presentaron cada uno de los pacientes, se puede notar como hubo una mejoría significativa de los pacientes de grado mayor a menor a excepción de la paciente N° 7 que entró sin Úlceras en escala grado tres y luego apareció con úlcera a los seis meses.

Tabla 5: Índice Tobillo-Brazo en los pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia de Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.

Grado	Al ingreso		A los 6 meses	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
• Menos de 0.5	7	70	1	10
• De 0.5 a 0.9	1	10	7	70
• De 1 a 1.5	1	10	1	10
• De 1.5 a 2	1	10	1	10
• Mayor de 2	0	0	0	0
Total	10	100	10	100

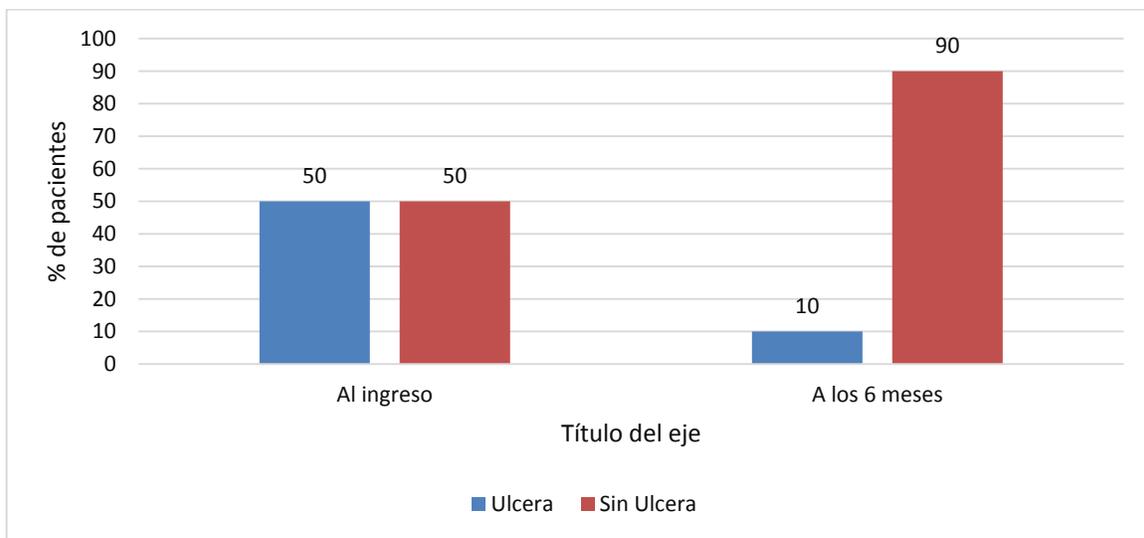
En la tabla 5, al valorar el índice tobillo brazo, se observó que un 70% tenía menos de 0.5 al ingreso, y a los 6 meses solo era el 10% en ese rango. El 10% al ingreso tenía de 0.5 a 0.9, y a los 6 meses se observó un 70% en este rango. Se mantuvo un 10% al ingreso y a los 6 meses en el rango de 1 a 1.5 y de 1.5 a 2 respectivamente. En Gráfica 6 se observa, el que el 50% de pacientes tuvo una ulcera y a los 6 meses estos tuvieron el cierre de la ulcera.



n=10.

En el gráfico 8, se observa lo antes mencionado pero con cada paciente, donde es más evidente el cambio que cada paciente ha presentado enunciado por paciente uno a uno donde se le dio el número aleatorio a cada paciente como en el gráfico 7.

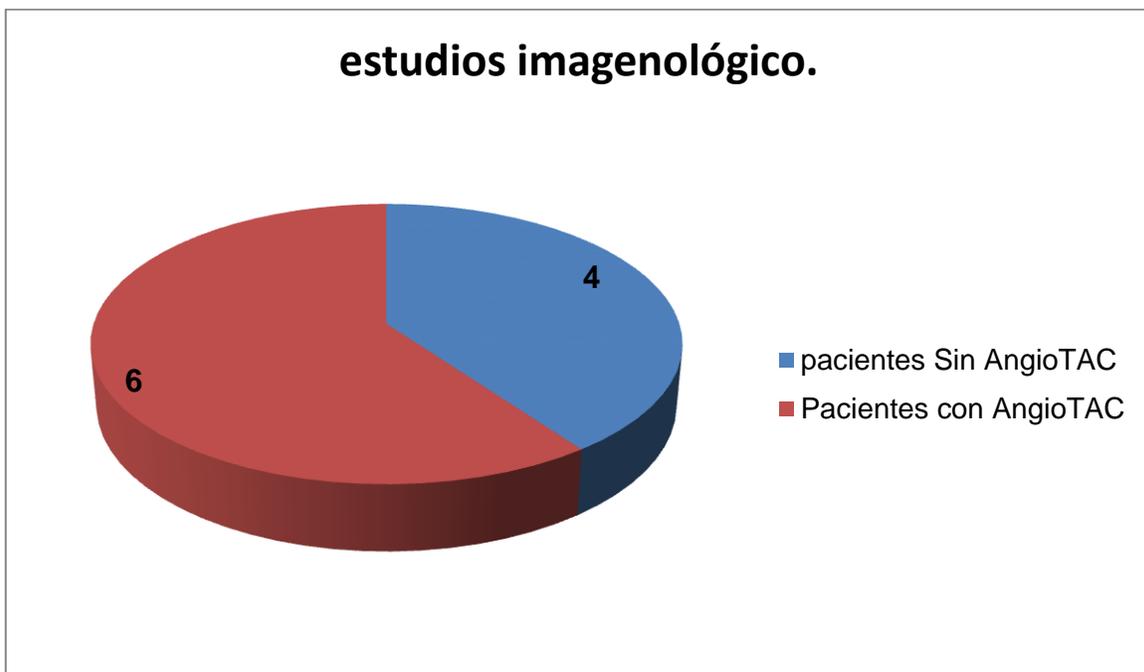
Gráfica 9: Presencia de úlcera en pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia de Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.



n=10

En el gráfico 9, se puede notar que cinco de los pacientes ingresaron con úlceras de los pacientes estudiados, los cuales al final de los seis meses se notó una cura total de las úlceras, se nota que a los seis meses de seguimiento una de las pacientes que no tenía úlcera, la presentaba al cabo de los seis meses debido a un trauma que le ocurrió a los dos meses de habersele hecho el procedimiento en el mismo miembro.

Gráfica 10: Estudios imagenológico a pacientes con Insuficiencia arterial de miembros inferiores que recibieron terapia de Células Madres Autólogas proveniente del tejido adiposo, en el Servicio de cirugía del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el periodo 2013-2014.



Seis de los diez pacientes se les hizo estudios imagenológico, evidenciándose en los seis pacientes cambios significativo a los seis meses, donde se determinó que hubo angiogénesis, así como mejoría en los que tenían estenosis.

Discusión.

La mayoría de los estudios de los pacientes con células madres, tiene una población de quinta a la sexta edad ⁹, la que se debe a que presentan en las mayorías de las enfermedades degenerativas, entre ellas las que tiene como consecuencia de la diabetes ¹⁶ y la arteriosclerosis ¹⁴, que afecta igualmente a mujeres como a varones. ⁹

La población de estudio comprende pacientes, con algunas comorbilidades ya conocidas en otros estudios; como la Hipertensión, Diabetes, entre otros ⁹, notándose un 30% Hipertenso y 30% diabéticos y dos de los pacientes además de diabéticos eran cardiopatas y padecían de Insuficiencia Renal Crónica.

En la mayoría de los estudios ^{9,10} realizados, tratan la insuficiencia arterial como un todo solo agrupando los factores de riesgos, en el presente estudio, se trata de agrupar los macro vasculares así como los microvasculares denotándose de estos los pacientes que tienen arteriosclerosis así como las microangiopatías en el diabético. En el presente estudio se tienen 4 pacientes con insuficiencia arterial macrovascular (arteriosclerosis) así como 6 pacientes con problemas arteriales provocados por la diabetes.

En estudios de Cabrearas M. et al 2009 y otros, seleccionaron paciente que estuvieron tanto hospitalizados como ambulatorios, donde administraron las células madres. En el presente estudio, 4 de los pacientes se hospitalizaron con la finalidad de seguimiento y manejo de las úlceras hasta que cicatrizaron, por lo que el manejo de las úlceras era meramente hospitalario, para evitar que se infectaran las úlceras, el resto de pacientes se les manejo ambulatoriamente. A todos los pacientes se les administro las células madres en quirófano así como en otros estudios ^{9,10,12,14}.

En teoría se sabe que lo ideal es la aplicación de 1 a 2 millones de células madres por Kilogramo de peso a los pacientes, en el presente estudio se tiene que; uno de los pacientes tenía menos de 50 millones de células, tres de los mismos estaban en un rango de 50 a 150 millones, dos se les aplicó de 150 millones a 250 millones, tres de 250 millones a 500 millones y a uno de 500 millones a mas, para un total de 10 pacientes, la mayoría se encontró en un rango de 50 millones hasta menos de 500 millones.

Muñoz G. et al 2008, injertaron células madres autólogas, con punciones que iban desde 30 con un cc de solución ya con células madres procedentes de médula Ósea, las punciones fueron en el miembro inferior afecto, en el presente trabajo las punciones se dividieron con menos de diez y mayor e igual a 10, notándose que la mayoría de los pacientes se les aplicó más de diez punciones para un 70% de la población, el 30% se les administro menos de diez punciones en el miembro inferior afecto, lo que se pudo notar con los pacientes que se les administro más de diez punciones, es el dolor que les ocasionaba hasta casi diez días después del procedimiento, por lo que se les tubo que administrar analgésicos. Sin mayores repercusiones, cosa que no se describen en los estudios ¹⁶, donde no se evaluó el dolor en el postquirúrgico.

Se evidenció en reacciones adversas en la cirugía un aumento transitorio de la presión arterial en comparación con la basal en los pacientes sobre todo hipertensos, en uno no hipertenso se notó un aumento ligero de la presión arterial, de los cinco pacientes, a cuatro hubo la necesidad de administrarles captopril sublingual de una a dos dosis, el cual hubo una rápida mejoría de la presión arterial, se asume esta reacción debido a la adrenalina en las infusiones que se administraba sobre todo en la liposucción, fármaco necesario para evitar sangrados en los espacios donde se hace la liposucción.

A siete de los diez pacientes se les administró más de diez punciones en los músculos gastrocnemios, músculos donde se les aplicaba las células madres, a lo cual coincide con la literatura consultada.⁹ a cuatro de los diez pacientes, que tenían úlceras, se les aplicó más de cinco punciones perilesionales, a los cuales tres de ellos tuvieron mejoría en un 90% de las úlceras.

Se evaluaron a los pacientes con la escala propuesta por Leriche- Fountaine, donde los parámetros a evaluar, es una escala que va desde el uno al cuatro, en el que la mayoría de los sintomatologías tienen una asignación mayor, en dicha escala, que incluye el máximo grado siendo cuatro el que presenta Úlcera. Se utilizó dicha escala como factores pronósticos para el seguimiento de los Pacientes como se puede ver reflejado en la tabla N°4 y Gráfico 7. Donde se encontró:

- Que la mayoría de la población estaba en la escala IV teniendo úlcera o gangrena el 50% de los Pacientes, grado tres que determina el dolor en reposo se registran un 40% de la población y un 10% de la misma tenían claudicación a menos de 150 metros al caminar.¹³
- Con el seguimiento de los pacientes se logró mejorar a los seis meses, los parámetros previo que tenían los pacientes, llegando a estar en la clasificación de Úlcera o gangrena solo el 20% de la población, dolor en reposo 0% y un 80% prácticamente lograron caminar más de 300 mts.¹³

En el estudio de Muñoz et al. 2008 se comprobó mejoría con el uso de células madre provenientes de la medula ósea así como con las células autólogas hematopoyéticas. Dicho estudio comparo el uso de ambos métodos evidenciando mejoría de la claudicación y con regresión de los síntomas de los pacientes utilizando, la misma escala del presente estudio¹⁶. Se deja claro que son pocos los estudios que se han hecho con células madres de tejido adiposo, la mayoría son hechos de medula Ósea.

Es de notar que una de las pacientes que tenía dolor en reposo al injertársele las células madres, la paciente no tuvo un cuidado necesario del miembro, por lo que a los dos meses del procedimiento por un trauma, hizo una úlcera, la cual en este momento está en periodo de cicatrización, y otra paciente que ingresó con úlcera a los seis meses aún tenía la misma úlcera dicha paciente abandonó el programa debido a que presentó otras complicaciones que prefirió manejar entre ellos una exacerbación de la cardiopatía de base que la paciente tenía.

Se evaluó en los pacientes el índice tobillo brazo, el cual se valoró al ingreso y en el seguimiento de los pacientes, este indicador es apenas mencionado en otros estudios. ^{9,16} como parámetro de evaluación en el pre quirúrgico, casi no mencionado a posterior, porque utilizaron estudios imageneológicos para seguimiento en tal caso la angiorrsonancia.¹³

En el presente estudio el índice tobillo brazo como se puede observar en la tabla N° 5 y gráfico N° 8. El 70% de los pacientes tenían menos de 0,5 esto significa de que las mayoría de los pacientes tenían casi obliterada las arterias pedia y tibial posterior, un 10% tenía de 0,5 a 0.9 significando una grado de estenosis significativa y un 10% tenía de 1,5 a dos significando un flujo acelerado debido al grado de estenosis del paciente. Estos pacientes se siguieron durante seis meses a más notándose que el 70% de los pacientes tuvieron un rango de 0,5 a 0,9 notándose mejoría significativa que casi indicaría la mejoría de los mismos que estuvo como promedio de 0,75 a 9 casi acercándose a la normalidad en el flujo, hubieron otro 10% que no se modificaron entre estos son los que estaban de 1,5 a dos. Pero con estos resultados se nota la mejoría significativa en la vascularidad de los pacientes la cual también es reflejada en la mejoría con la escala de Leriche- Fountaine.¹³

Presencia de Úlceras, otros estudios que valoraron el cierre de Úlceras en miembros inferiores tuvieron buenos resultados en el postoperatorio siguiendo a los pacientes hasta un año ¹⁶ en el presente estudio, cinco Pacientes que ingresaron al estudio tenían úlceras, los cuales a cuatro les cicatrizó exitosamente con una mejoría de la úlcera de hasta 90%, una de ellas que ingresó con la úlcera, a los seis meses tenía la misma úlcera que no cicatrizó, paciente con problemas médicos la cual no se siguió después de los seis meses y es de aclarar que una de las pacientes que ingresó al estudio, al momento de injertarle células madres, no tenía úlcera, debido a poco cuidado del miembro y manejada en otra unidad asistencial por un trauma en el miembro inferior tratado, la paciente desarrolló úlcera por isquemia en el mismo, pero que hasta este momento se nota recuperación y mejoría por las curas en el Hospital Oscar Danilo Rosales, con tejido de granulación, neo vascularización.

A seis de los diez pacientes, se les realizó AngioTAC de los cuales, se evidencio cambio imagenológico en los seis pacientes, donde se determinó que hubo angiogénesis, recanalización de las arterias que tenían estenosis, así como un enmarañado distal que captaba el contraste, donde se determinó que hubo la formación de nuevos vasos sanguíneos, algo similar a lo que se encontró en otros estudios.⁹

Conclusiones.

En el presente estudio, se evidencio que la mayoría de la población de estudio eran mayores de sesenta años e igualmente predominó el sexo femenino.

Los pacientes tenían como características clínicas las siguientes.

- La mayoría de los pacientes eran diabéticos, e hipertensos, una minoría tenía insuficiencia renal y cardiópata.

- Se agruparon a los pacientes en dos grupos, siendo los microangiopatas los que ligeramente prevalecieron sobre los macroangiopatas.

- En los pacientes estudiados la mitad tenía afectación del miembro inferior derecho a los cuales se les dio tratamiento en un miembro, en la mayoría de los que tenían afectación del izquierdo, se les tuvo que administrar ambos miembros las células debido a asociación de afectación del miembro contralateral evidenciada por doopler previo.

- La mitad de los pacientes presentaron durante el procedimiento hipertensión arterial como reacción del procedimiento por el uso de la adrenalina en las infusiones posterior a la liposucción, otra reacción que se notó, fue el dolor postpunción, notándose en aquellos que habían recibido más de diez.

- La minoría de los pacientes se hospitalizó posterior al procedimiento debido al cuidado de las úlceras.

- En la mayoría de los pacientes el recuento celular oscilo entro 30 millones hasta 350 millones.
- A la mayoría de los pacientes se les hizo más de diez punciones de un ml cada una de ellas pero se notó que esto contribuía a un poco de dolor que mejoraba con los analgésicos posteriormente al procedimiento.
- La medición clínica de los pacientes, se estableció a través de dos indicadores objetivos de signos y síntomas como es el propuesto por Leriche Fountain escala que lleva su mismo nombre, donde se evidenció que la mayoría de los pacientes estaban en la escala tres y cuatro lo que equivalía a un deterioro significativo de la vascularidad de sus miembros inferiores, notándose a su posterior seguimiento un aumento de pacientes en las escalas a dos a, estando en este rango el 80% de la población estudiada.
- Otro indicador que se siguió es; el índice tobillo brazo, en el cual se evidencio que en una mayoría de los paciente se encontraba en un rango bajo, indicado por los 0,5 según dicho índice; a los seis meses posteriores, se notó que la mayoría estaba en el rango de 0,5 a 0,9 casi llegando al rango ideal para este índice.
- Hubo mejoría significativa a los seis meses en los pacientes a los que se les realizó estudios imagenológico, notándose mejoría en áreas donde habían estenosis, así como neovascularización en los seis pacientes a los que se les hizo angioTAC.

- Por los datos encontrados según el índice tobillo brazo y la medición de la escala de Leriche Fountaine y cambios imagenológico en los pacientes en estudio, se puede determinar; que la terapia de células madre autólogas proveniente del tejido graso, es efectivo por los cambios ocurridos en los paciente, a los seis meses con relación al ingreso, coincidiendo con lo que cita la bibliografía consultada.

Recomendaciones.

Se recomienda que para futuro, se den seguimiento a más pacientes a los que se les podría administrar células madres autólogas procedente del tejido adiposo, con la finalidad de ampliar la población de estudio.

Se debe de seguir con el presente estudio, hasta más o menos cinco años con los pacientes para determinar las eventualidades que podrían presentar los mismos, así como medir la calidad de vida a los que se les halla administrado células madres autólogas procedente del tejido adiposo.

Se demuestra que es un método efectivo, según los resultados obtenidos, por lo que se les puede ofertar a los pacientes, que existe un método alternativo eficaz que consiste en la regeneración de la vascularización en los miembros inferiores lesionados por las complicaciones de la diabetes así como, de la aterosclerosis por probable dislipidemia.

Presentar este informe a las autoridades del MINSA para poder obtener la compra de los materiales en los que consiste una centrifuga, recuento de celular, enzimas y albuminas, para poder administrárseles células madres autólogas a los pacientes que quisieran este método terapéutico.

Capacitación permanente al personal, para entrenarlos en la obtención, procesamiento, almacenamiento, manipulación y administración de las células madres provenientes de la grasa de cada paciente a los que se les administraría.

Bibliografía.

- 1- Mínguez A., Escamilla F. Terapia celular y otras estrategias neuroregenerativas en la enfermedad de Parkinson (I). Revista neurológica, 41, 604-614, 2005.
- 2- Pu L.L.Q., Cui X., Fink B.F., Gao D., Vasconez H.C. Adipose aspirates as a source for human processed lipoaspirated cells after optimal cryopreservation. Plastic and reconstructive Surgery, 117, 1845-1850, 2006.
- 3- Ringe J., Kaps C., Burmester G.R., Sittinger M. Stem cells for regenerative medicine: advances in the engineering of tissues and organs. Naturwissenschaften, 89, 338–351, 2002.
- 4- Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.I., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Molecular biology of the cell, 13, 4279-4295, 2002.
- 5- Bunnell B.A., Deng W., Robinson C.M., Waldron PR, Bivalacqua TJ, Baber SR, Hyman AL, Kadowitz PJ. Potential application for mesenchymal stem cells in the treatment of cardiovascular diseases. Canadian journal of physiology and pharmacology, 83, 529-539, 2005.
- 6- Freshney R.I., Stacey G.N., Auerbach J.M. Culture of specialized cells. Culture of human stem cells. John Wiley & Sons, Inc, 369, Capitulo 5-7, 2007.

- 7- Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., Huang J., Futrell W., Katz A.J., Benhaim P., Lorenz P., Hedrick M.H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering*, 7, 211-228, 2001.
- 8- Ashjian P.H., Elbarbary A.S., Edmonds B., Deugarte D., Min Z., Zuk P., Lorenz H.P., Benhaim P., Hedrick M.H.: In vitro differentiation of human processed lipoaspirate cells into early neural progenitors. *Plast. Reconstr. Surgery*. 2003, 111: 1922.
- 9- Cabrera M, Fernández J, Marrero I, Ramírez N, Álvarez K, Guerra T, et al Autotrasplante de células madre hematopoyéticas en miembros Inferiores isquémicos de pacientes con aterosclerosis obliterante en los estadios III-IV de la clasificación de Fontaine. Experiencia en Cienfuegos. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]*. 2009;25 (Supl. Resumen 3 [citado 1 marzo2010] Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_04_09/hih02409.htm
- 10-Flame I, Risau W. Induction of vasculogenesis and hemotapoesis is vitro. *Development*. 1992 Oct;116(2):435-9.
- 11-His W. Leoithoblast und angioblast der wirbelthiere. *Abhandl K S Ges Wiss Math Phys* 1900; 22:171-328.
- 12-Weiss M, Orkin SH. In vitro differentiation of murine embryonic stem cells new approaches to old problems. *J Clin Invest*. 1996 Feb 1;97(3):591-5.
- 13-Tateishi-Yuyama E, Matsubara II, Murohara T, Ikeda U Shintani 5, Masaki II 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 Aug 10;360(9331):427-35.

- 14-Barros M. B., González Porras J. R., Sánchez-Guijo F. M., et al. Angiogenesis Terapéutica Mediante AC133+.MAPFRE MEDICINA, 2007 · VOL.18 · Nº 3 · 180-189.
- 15-Huang P, Li S, Han M, Xiao Z, Yang R. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:2155- 2160.
- 16-Muñoz G., Domingo. R,*Gómez.D, Almaguer. Trasplante autólogo de células hematopoyéticas de médula ósea para el tratamiento de isquemia crítica en la insuficiencia arterial periférica en el paciente diabético. *Medicina Universitaria* 2008;10(38):29-35.
- 17-Fonseca P. Hospital Posadas. Biterior. Departamento de Biotecnología. Celulas Madres, Pagina 1-5.
- 18-Pineda C. y cols. adipose tissue derived mesenchymal stem cells, isolation and differentiation into the osteogenic lineage. *Revista Ingeniería Biomédica* ISSN 1909–9762, volumen 3, número 5, enero-junio 2011, págs. 58-65 Escuela de Ingeniería de Antioquia–Universidad CES, Medellín, Colombia.

ANEXOS.

Paciente N°1 evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madres autólogas procedente del tejido graso, hasta un año posterior.



Figura N°1, Ingreso de la paciente 1, antes del injerto de Células madres.

Figura N°2, Paciente 1, posterior a 45 días del injerto de células madres, donde se manejó intrahospitalariamente para el manejo de la úlcera.



Figura N°3, Paciente N°1 a los noventa días posterior al injerto de células madres.

Figura N°4, Paciente N°1, a los 150 días posterior al procedimiento de injerto de células madre.

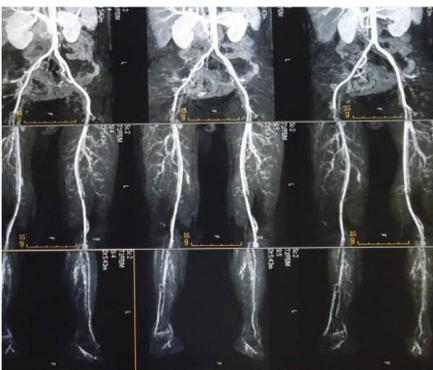
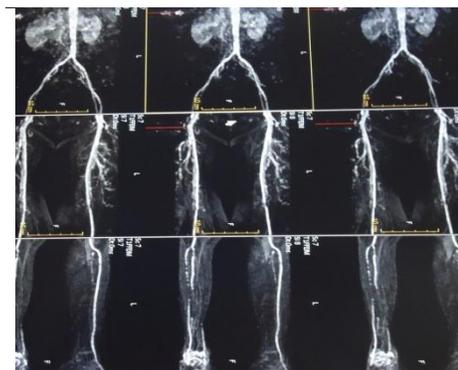


Figura N°5. Angioresonancia de Paciente N°1, antes del injerto de células madres, donde se evidencia, la vascularidad deficiente y segmentos donde no se evidencia flujo.

Figura N°6, Angioresonancia de Paciente N°1, donde se evidencia la neovascularización en la parte distal del miembro inferior



Paciente N°2 evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madres autólogas procedente del tejido graso, hasta un año posterior del miembro inferior izquierdo.



Figura N°7, Ingreso del paciente 2, diez días antes del injerto de Células madres. Se puede notar la necrosis del dedo segundo y material desvitalizado en la úlcera.



Figura N°8, paciente 2, el día del injerto de Células madres. Se puede notar la necrosis del dedo Primero y segundo y material desvitalizado en la úlcera.

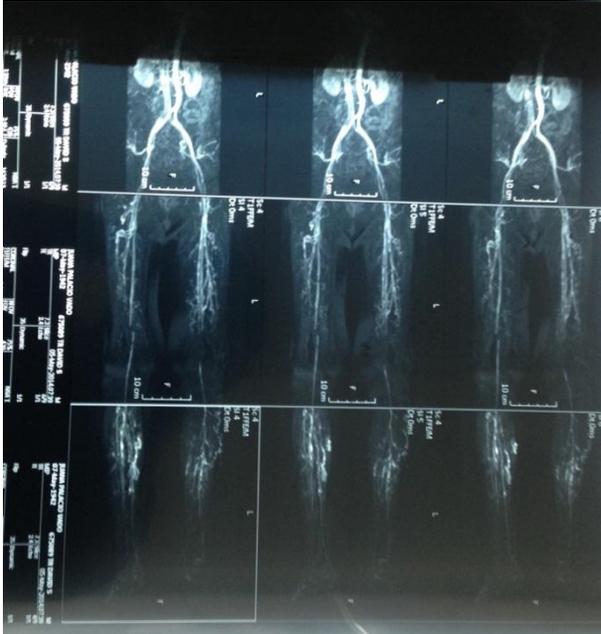


Figura N°9, paciente 2, a los 90 días del injerto de Células madres, se puede notar la cicatrización de la Úlcera que paciente tenía por la necrosis de dedos; primero, segundo y tercero.



Figura N°10, paciente 2, a los seis meses del injerto de Células madres, se puede notar la cicatrización de toda el área cruenta del miembro inferior afectado.

Paciente N° 3; evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madres autólogas procedente del tejido graso, hasta un año posterior del miembro inferior Izquierdo.



Paciente 3 al momento del ingreso, con afectación de predominio en el miembro inferior derecho, se evidencias áreas de estenosis marcada desde la femoral que se acentúan en la poplítea, así como poca visión hacia abajo.



Paciente 3 a los seis meses, donde se evidencia presencia de las arterias tibial anterior y tibial posterior. Se evidencia flujo en el miembro inferior.

Paciente N° 5; evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madres autólogas procedente del tejido graso, hasta un año posterior del miembro inferior izquierdo.



Figura N°11, paciente N°5, al ingreso, el día que se le colocaron las células madres. Se puede notar la Úlcera con tejido pálido, fibrina en el maléolo externo, raro de este tipo de úlceras arteriales, se puede notar la irregularidad del borde característico de las misma.



Figura N°12, paciente N°5, a los ocho meses, posterior al injerto de células madres, se puede notar una mejoría de hasta el 90% de la úlcera con disminución del diámetro, con tejido de granulación e incluso se puede observar como mejoró el color de la piel circundante de la úlcera.



Figura 13, se evidencian en paciente 5, al momento del ingreso al estudio, áreas de estenosis y ausencia de flujo, más marcado en miembro inferior derecho y distal en ambos.

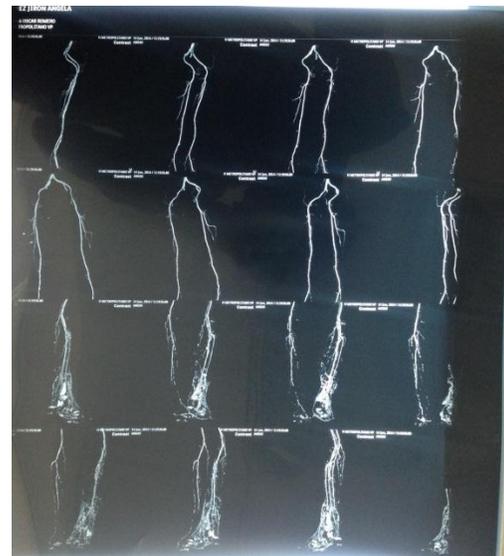


Figura 14, se evidencian en paciente 5, mejoría en las áreas donde había estenosis y mejoría en el flujo distal, estos eventos ocurrieron a los seis meses de la previa.

Paciente N° 6; evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madres autólogas procedente del tejido graso, hasta un año posterior del miembro inferior Izquierdo.



Figura N°15, paciente N°6, al ingreso, el día que se le colocaron las células madres. Se puede notar igual que la anterior, la Úlcera con tejido pálido, fibrina en el maléolo externo, raro de este tipo de úlceras arteriales, se puede notar la irregularidad del borde característico de las misma.



Figura N°16, paciente N°6, donde se evidencia una cicatrización del 90% de la úlcera, donde se mira la regeneración de la piel, una pequeña área cerca de la úlcera original, se produjo posterior a un trauma a este nivel.

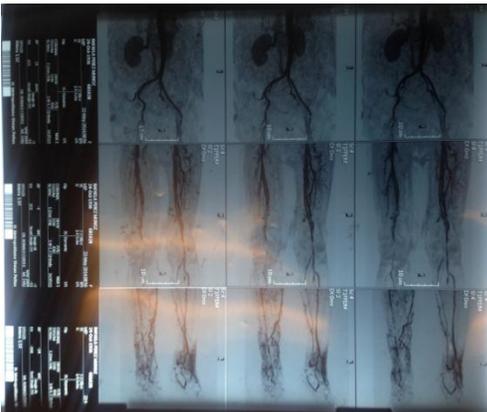


Figura N° 17, se evidencia al momento del ingreso a la paciente 6, donde se evidencian áreas de estenosis a nivel de la arteria poplítea y flujo distal ausente.

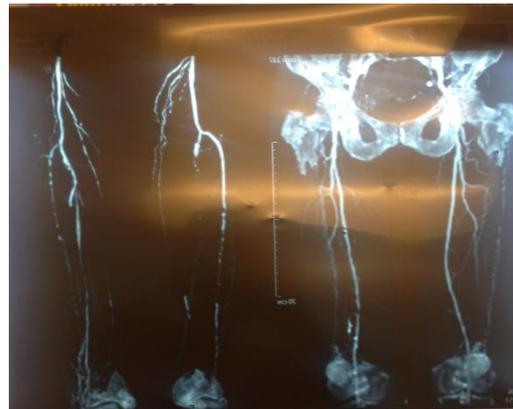


Figura N° 18, se evidencia a los seis meses posterior al ingreso a la paciente 6, donde se evidencian mejoría en las áreas donde antes había estenosis a nivel de la arteria poplítea y flujo distal.

Paciente N° 7; evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madres autólogas procedente del tejido graso, hasta seis meses posterior al mismo en el miembro inferior Izquierdo.



Figura N° 19, Paciente 7, diabética, el día del injerto de las células madres, se puede notar el grado de atrofia de los dedos, ocasionado por el grado de compromiso de irrigación arterial.



Figura N° 20, Paciente 7, se ingresa al tercer piso del HEODRA, posterior al manejo en otra unidad de salud debido a que la paciente presentó un trauma asociado a isquemia e infección.



Figura N° 21, Paciente 7, la que luego de cuatro semanas de su ingreso, se nota tejido de granulación en el miembro afecto, donde se le injertaron las células madre.



Figura N° 22, Paciente 7, la que luego de ocho semanas de su ingreso, se nota tejido de granulación en el miembro afecto, donde se le injertaron las células madre.

Paciente N° 7; evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madre autólogas procedente del tejido graso, hasta seis meses posterior al mismo en el miembro inferior Izquierdo.



Figura N°23, Al ingreso de la paciente, se nota como hay un flujo disminuido y áreas de estenosis en arteria femoral de predominio izquierdo



Figura N°24, A los seis meses se evidencia que hay mejoría y reforzamiento en las áreas de estenosis por lo que se determina que ocurrió angiogénesis posterior.

Paciente N° 9; evolución, desde su ingreso, antes del Injerto de células madres autólogas procedente del tejido graso, hasta seis meses posterior al mismo en el miembro inferior Derecho e Izquierdo.

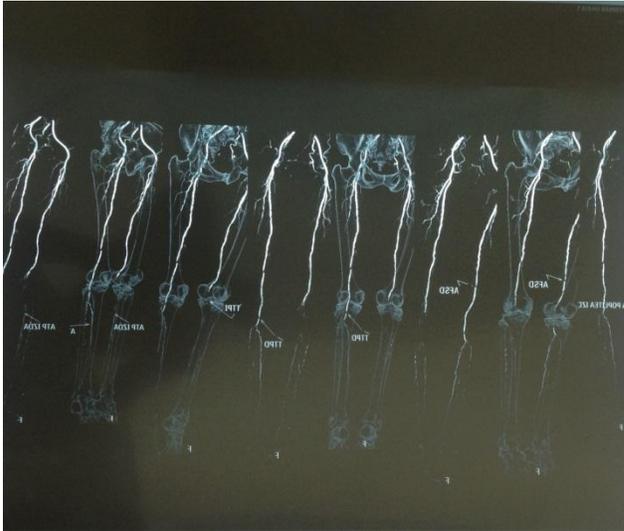


Figura N° 25, paciente nueve, al momento del ingreso, donde se evidencia un flujo ausente a nivel de la arteria poplítea del miembro inferior Izquierdo y derecho



Figura N° 26. Paciente nueve, a los seis meses, del ingreso, donde se evidencia un flujo y recanalización de las arterias tibial anterior y posterior así como de la arteria peronea, de los miembros inferiores derecho e izquierdo.