

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DEPARTAMENTO DE ORTOPEDIA Y TRAUMATOLOGÍA
DR JAIME GRANERA SOTO**



**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN ORTOPEDIA Y TRAUMATOLOGÍA**

**Evolución clínica de pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el
Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo
Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de Septiembre de 2022.**

AUTOR:

Dr. Yáder Antonio Aráuz Pineda
Residente de Ortopedia y Traumatología

TUTOR:

Dr. Ósman José Pravia Martínez
Especialista en Ortopedia y Traumatología

ASESOR:

Dr. Francisco Tercero
Máster en Salud Pública

León, Febrero de 2023

“Por la Pertinencia y la Excelencia Académica”

DEDICATORIA

Dedico esta tesis principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi familia, quienes son mi motivación, mi esposa e hijos, quienes con su amor y apoyo incondicional han sido fuente de inspiración para seguir adelante con nuevas metas y proyectos.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mis padres, que con su demostración de padres ejemplares me han enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

A mi esposa, por acompañarme durante todo este arduo camino y compartir conmigo alegrías y fracasos. A mis Hijos, por su apoyo incondicional y por demostrarme la gran fe que tienen en mí.

A las autoridades del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello por permitirme llevar a cabo este estudio en dicha unidad de salud y apoyarme con materiales de la institución.

A mis maestros del Departamento de Ortopedia y Traumatología, por contribuir enormemente en mi proceso de crecimiento profesional y académico durante estos 4 años de residencia.

A mis compañeros de la residencia, quienes con su apoyo directo fueron de mucha ayuda para la aplicación de las terapias usadas en este estudio.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue describir la evolución clínica de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de Septiembre de 2022.

El estudio fue observacional, descriptivo, de corte transversal. La fuente de información fue primaria, se estudió a los pacientes personalmente a través del llenado de una ficha. Los datos recolectados fueron introducidos, procesados y analizados en el software SPSS versión 20.

La mayoría de los casos tenía edad entre 50-59 años (39.1%), sexo masculino (60.9%), acompañado (43.5%), escolaridad primaria (56.5%) y de procedencia urbana (60.9%). Las comorbilidades asociadas en los pacientes con pie diabético predominaron Hipertensión Arterial (47.8%) y la Enfermedad Renal (30.4%). El 95.7 % de los pacientes presentó cierre completo de la lesión a los seis meses de seguimiento. Los eventos no deseados que se presentaron : Dolor (56.5%), Sangrado (26.1%). El (87%) de los pacientes no requirieron hospitalización después del procedimiento.

Se evidenció aumento en la Velocidad del Flujo Picosistólico y el Índice de Pulsatilidad en el ultrasonido Doppler realizado en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat en las principales que irrigan el pie: arterias Tibial Anterior 26.3%, Dorsal Pedia 31.1% y Tibial Posterior 38.1%.

Este estudio muestra beneficio clínico para pacientes con heridas diabéticas complejas en los que se utiliza Nanofat. Los estudios Doppler documentan la evidencia de cambios físicos que tienen lugar en el lecho de tejido isquémico distal subyacente a la úlcera y en las características estructurales de las arterias que irrigan el pie.

Palabras claves: *Nanofat, células madre, pie diabético.*

ÍNDICE

Introducción.....	1
Antecedentes.....	3
Justificación.....	6
Planteamiento del problema.....	7
Objetivos.....	8
Marco Teórico.....	9
Diseño metodológico.....	19
Resultados.....	23
Discusión.....	31
Conclusiones.....	33
Recomendaciones.....	34
Referencias.....	35
Anexos.....	38

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una amenaza para la salud mundial. Según la Federación Internacional de Diabetes, aproximadamente 415 millones de personas entre 20 y 79 años sufrieron diabetes mellitus en 2015, y se espera que este número aumente a 642 millones en 2040 ⁽¹⁾. El síndrome del pie diabético es una de las complicaciones más comunes en pacientes diabéticos y puede provocar isquemia de las extremidades o incluso amputación. La patogenia de esta afección es compleja e incluye lesiones nerviosas y microvasculares, así como infección y deformidad. Se informa que la tasa de ulceración podría superar el 60% en los próximos 2 años ⁽²⁾. Una amplia investigación sugiere que el daño capilar se asocia con un mayor riesgo de aparición de úlceras en los pies en pacientes diabéticos ⁽³⁾. Con la isquemia periférica, pueden producirse una circulación pobre y un crecimiento nervioso deteriorado en la extremidad inferior, lo que podría dificultar la curación de las úlceras. Uno de los principales obstáculos para el tratamiento de las úlceras del pie diabético es la lesión microvascular.

Con el aumento de la investigación sobre células madre, un número creciente de experimentos han demostrado la efectividad de las células madre en el tratamiento de enfermedades isquémicas en las últimas décadas. El estudio de Lu demostró un mejor flujo sanguíneo en las úlceras de pie diabético como resultado de la inyección de células madre derivadas de la médula ósea ⁽⁴⁾. Algunos investigadores han tratado de tratar las úlceras de pie diabético con células madre mesenquimales derivadas de la placenta en hidrogel en condiciones clínicas ⁽⁵⁾. Las células madre pueden derivarse de la grasa, los músculos, la médula ósea y la placenta ⁽⁶⁾. Debido a la facilidad de aislamiento, los sitios de donantes abundantes y el riesgo mínimo de morbilidad de los donantes, los tejidos adiposos son más atractivos que otros tipos de tejidos para su uso en la extracción de células madre ⁽⁷⁾. La investigación adicional ha indicado que las células madre derivadas de tejido adiposo son capaces de promover eficazmente la epitelización de heridas y la formación de estructuras microvasculares y acelerar la cicatrización de heridas tanto en condiciones patológicas como fisiológicas ⁽⁸⁾.

Además, las células madre derivadas de tejido adiposo no solo pueden diferenciarse directamente en células endoteliales vasculares que contribuyen a la formación de redes vasculares, sino que también pueden secretar factores angiogénicos, como el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular ⁽⁹⁾. Estas citocinas secretadas pueden promover la angiogénesis, lo que puede mejorar la curación de las úlceras de pie diabético. Sin embargo, el trasplante tradicional de células madre derivadas de tejido adiposo para terapia clínica requiere procedimientos complicados in vitro que podrían arriesgar la contaminación biológica de las células madre. ⁽¹⁰⁾

Nanofat se refiere al material recogido mediante liposucción que posteriormente se emulsiona mecánicamente y se somete a filtración celular. En comparación con las células madre derivadas de tejido adiposo, el proceso de preparación de nanofat es más simple, más barato y lleva menos tiempo, lo que significa que tiene mejores posibilidades de aplicación en el tratamiento clínico de las heridas diabéticas. Hay pocos datos publicados sobre el papel de la nanofat en la curación de heridas crónicas. Nanofat consta de células madre derivadas de tejido adiposo, matriz extracelular y otros componentes y puede secretar varias citocinas, que pueden promover la regeneración del tejido epitelial y los vasos sanguíneos ⁽¹¹⁾. Como resultado, nanofat puede tener efectos positivos en las heridas del pie diabético.

ANTECEDENTES

En 2010 el Departamento de Endocrinología y Metabolismo del Hospital del Suroeste de la Tercera Universidad Médica Militar de Chongqing, China realizó un ensayo piloto para identificar mejores células para el tratamiento de la isquemia diabética crítica de las extremidades y la úlcera del pie. Bajo tratamiento ordinario, las extremidades de 41 pacientes diabéticos tipo 2 con isquemia diabética crítica de las extremidades bilateral y úlcera del pie fueron inyectadas intramuscularmente con células madre mesenquimales de médula ósea, células mononucleares derivadas de médula ósea o solución salina normal.

La tasa de curación de la úlcera del grupo células madre mesenquimales de médula ósea fue significativamente mayor que la de las células mononucleares derivadas de médula ósea a las 6 semanas después de la inyección ($P = 0.022$), y alcanzó el 100% 4 semanas antes que el grupo células mononucleares derivadas de médula ósea. Después de 24 semanas de seguimiento, las mejoras en la perfusión de las extremidades inducidas por el trasplante de células madre mesenquimales de médula ósea fueron más significativas que las de células mononucleares derivadas de médula ósea en términos de tiempo de caminata indoloro ($P = 0.040$), índice tobillo-brazo ($P = 0.017$), presión transcutánea de oxígeno ($P = 0.001$) y análisis de angiografía por resonancia magnética ($P = 0.018$). No hubo diferencias significativas entre los grupos en términos de alivio del dolor y amputación y no hubo eventos adversos graves relacionados con ambas inyecciones celulares. ⁽¹²⁾

En 2014 en el departamento de Cirugía del Hospital Escuela Dr. Óscar Danilo Rosales Arguello de León, se realizó un estudio sobre 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 el que concluyó que al ingreso el 90% de los pacientes tenían un grado crítico de lesión arterial según la escala Leriche-Fountaine, dando grado III y IV, y a los seis meses se notó que el 80% de los mismos, podían caminar más de 300 metros para una reducción en la escala a IIa y que el 70% ingresó con un índice tobillo brazo crítico menos de 0,5 y que a los seis meses había mejorado de 0,5 a 0,9 casi buscando a la normalidad. ⁽¹³⁾

En 2014, el primer estudio en el MINSA para evaluar el uso de Fracción Vascular Estromal para insuficiencia vascular periférica se inició. En 2017 estos autores describieron en *Stem Cell Research* los resultados de éste el primer uso en el hombre de células de la fracción vascular estromal derivada del tejido adiposo administradas en el punto de atención de la serie de 10 pacientes con Enfermedad Vascular Periférica grave según lo determinado por los hallazgos clínicos, el índice tobillo / brazo y Angiografía por resonancia magnética. La cohorte consistió en 3 pacientes con diabetes solamente, 4 con diabetes más arteriosclerosis y 4 con arteriosclerosis. ⁽¹⁴⁾

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 eran considerados candidatos a la amputación. ⁽¹⁴⁾

En 10/10 pacientes, la extremidad más sintomática se trató con una inyección local de células fracción vascular estromal autólogas derivadas de tejido adiposo 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 fracción vascular estromal 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 dolor según la clase 1 de Rutherford y / o una cicatrización completa de la herida. Las puntuaciones de índice tobillo / brazo 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 pedia y tibial posterior, respectivamente. En resumen: este estudio demostró la viabilidad de un producto de células no expandidas como alternativa a la paliación o la amputación. ⁽¹⁴⁾

En 2018 en el segundo estudio en el MINSA de fracción vascular estromal para insuficiencia vascular periférica, sesenta pacientes dieron su consentimiento informado, fueron inscritos en el estudio y fueron tratados con fracción vascular estromal en tres hospitales universitarios: en León (28), Matagalpa (14) y Managua (18). Había 25 hombres y 35 mujeres con edades comprendidas entre los 35 y los 70 años. Las heridas en este estudio variaron en tamaño de 9 cm² (3 cm x 3 cm) a 120 cm² (15 cm x 8 cm) con un tamaño medio de herida de 32,9 cm².⁽¹⁵⁾

Las heridas demostraron una respuesta de curación rápida a la infusión de fracción vascular estromal. El tiempo promedio para una respuesta visible de la herida fue de 1 a 2 meses, con cierres completos informados entre 3 y 5 meses. A los 6 meses de seguimiento, 55 pacientes se presentaron para el seguimiento con un 100% de cierre en 49, un 95% de cierre en 4 y un 75% de cierre en 2. Las heridas residuales que afectaban al 5% de la superficie restante se localizaron en la cabeza plantar del primer metatarsiano y la cara distal-medial del dedo gordo del pie, ambos puntos de presión conocidos para el uso de zapatos. Los cierres del 75% se ubicaron en el lado lateral y plantar del pie. Estos resultados a los 6 meses se mantuvieron sin cambios al año de seguimiento. No hubo casos de recaída.⁽¹⁵⁾

Los resultados de valoración Doppler fueron también llamativos. En las arterias tanto dorsal como plantar, notamos cambios prácticamente universales en la forma de onda, la velocidad pico-sistólica y el índice de pulsatilidad. En suma, estos hallazgos reflejan el desarrollo de un sistema de microcirculación nueva en el pie tratado que corresponden 100% con el saneamiento de la úlcera.⁽¹⁵⁾

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 pacientes no diabéticos. 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 salvar el pie, 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. Se pretende valorar la seguridad y eficacia en los pacientes con pie diabético que tienen arteriopatía significativa en donde una de las grandes posibilidades que se les oferta es la amputación, es por ello que, con esta nueva modalidad que consiste en la aplicación de células madre autólogas mediante la técnica de nanofat, se pretende mejorar el estilo de vida, así como rescatar el miembro afectado.

Con esta investigación se espera brindar conocimientos científicos sobre la eficacia de la terapia celular derivada del tejido adiposo como una nueva opción terapéutica para los pacientes con pie diabético. Se espera que la evidencia científica mostrada permita impulsar nuevas investigaciones e inversiones para poder contribuir a que más personas puedan optar a este tratamiento beneficioso y seguro.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El síndrome del pie diabético es una de las complicaciones más comunes en pacientes diabéticos y puede provocar isquemia de las extremidades o incluso amputación. La patogenia de esta afección es compleja e incluye lesiones nerviosas y microvasculares, así como infección y deformidad. Se informa que la tasa de ulceración podría superar el 60% en los próximos 2 años ⁽²⁾. Una amplia investigación sugiere que el daño capilar se asocia con un mayor riesgo de aparición de úlceras en los pies en pacientes diabéticos ⁽³⁾. Con la isquemia periférica, pueden producirse una circulación pobre y un crecimiento nervioso deteriorado en la extremidad inferior, lo que podría dificultar la curación de las úlceras. Uno de los principales obstáculos para el tratamiento de las úlceras del pie diabético es la lesión microvascular.

Nanofat consta de células madre derivadas del tejido adiposo, matriz extracelular y otros componentes y puede secretar varias citocinas, que pueden promover la regeneración del tejido epitelial y los vasos sanguíneos ⁽¹¹⁾. Como resultado, nanofat puede tener efectos positivos en las heridas del pie diabético.

Es una nueva alternativa en la terapia de pacientes con pie diabético, que implica mayores beneficios, con mejoría clínica a corto y largo plazo, por lo que probablemente sea una solución costo-efectiva para su aplicación en los pacientes.

De lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la evolución clínica de pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de Septiembre de 2022?

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Describir la evolución clínica de pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar las características sociodemográficas de los pacientes con pie diabético que recibieron terapia con Nanofat.
2. Describir las características clínicas de los pacientes con pie diabético antes y después del procedimiento con Nanofat.
3. Determinar los cambios en el ultrasonido Doppler en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat antes y después del procedimiento.

MARCO TEÓRICO

Células madre

Las células madre son células especializadas que poseen la capacidad de autorrenovación, capaces de generar una o más células maduras diferenciadas. Desde el punto de vista embriológico, en estadios tempranos del desarrollo se pueden identificar y aislar células con capacidad “totipotencial”, término que se emplea para indicar que a partir de ellas se pueden generar todos los tipos celulares del organismo adulto. ⁽¹⁶⁾

Su historia remonta alrededor del año 1850, cuando se descubrió que existían células que podían generar otros tipos de células. Alrededor de 1900 se descubrió las primeras células madre cuando se encontró que algunas células podían generar células sanguíneas, pero fue el histólogo ruso Alexander Maksimov que propuso la denominación de células madre en el Congreso de la Sociedad de Hematología en Berlín, propuso la existencia de las células madre hematopoyéticas, en el año 1908. Hace más de 30 años (Martín, 1981; Evans et al., 1981; Bradley et al., 1984) aislaron y caracterizaron líneas celulares pluripotentes, obtenidas de la masa interna de embriones de ratón en estadios tempranos del desarrollo. ⁽¹⁶⁾

Las células madre pueden dividirse potencialmente sin límite para reponer otras células que se hayan dañado. Una célula madre se divide asimétricamente dando lugar a dos células hijas, cada nueva célula tiene el potencial de permanecer como célula madre o convertirse en otro tipo más especializado de célula. ⁽¹⁷⁾

Las características más importantes de las células madre son dos. La primera, que en condiciones adecuadas tienen capacidad ilimitada de divisiones manteniendo sus mismas características. La segunda es que son capaces de generar varios de los linajes celulares de un individuo. En principio los científicos trabajaron con dos tipos de células madre de animales y humanos, células madre embrionarias y células madre adultas, que tienen diferentes funciones y características. ⁽¹⁷⁾

Además, en determinadas circunstancias, las células diferenciadas pueden “revivir” su estado indiferenciado y transformarlo en una situación en la que se consigue la proliferación celular y la capacidad de generar un número reducido de tipos celulares. ⁽¹⁸⁾

Hasta el momento se han diferenciado células madre de tres orígenes distintos: células madre embrionarias y células madre embrionarias germinales, células madre procedentes de carcinomas embrionarios y células madre procedentes de los tejidos somáticos y aislados en individuos adultos. En la actualidad se pueden obtener células con capacidad similar a las células madre gracias a tecnologías de reprogramación genética a partir de células adultas. (19)

Ambiente de las Células Madre

Pese a las innovaciones tecnológicas en cultivo de células madre, resulta difícil el mantenerlas en un estado indiferenciado a complacencia del investigador dada su naturaleza de diferenciación, la misma puede ser reconocida descubriendo los mecanismos que la regulan, conociendo el microambiente o nicho que las rodea y les permite permanecer en un estado quiescente.

El nicho ejerce un control sobre las células madre mediante secreción de factores de crecimiento y mantenimiento, inducidos selectivamente. Los cuatro tipos celulares mencionados poseen varias características en común, como algunos marcadores moleculares como la isoenzima de la fosfatasa alcalina, un dominio del factor de transcripción Oct4, alta actividad de la telomerasa y varios marcadores de membrana reconocidos por anticuerpos monoclonales, la función de muchos es aún desconocida, no obstante, Oct4 es determinante en el establecimiento y mantenimiento de su pluripotencialidad. La capacidad para transcribir la telomerasa se correlaciona con la expectativa de vida de un linaje, ésta es una ribonucleoproteína que adiciona repeticiones teloméricas a los extremos de los cromosomas. (20)

En los diferentes nichos el Factor Transformante de Crecimiento b-relacionado (TGF- β) y el factor Wnts, activadores de la transcripción, participan en la diferenciación de las células madre, su adhesión a la membrana basal del nicho es mediada por moléculas como las integrinas α y β que son la más caracterizadas, con capacidad de activar factores de crecimiento, su descohesión con ellas puede provocar diferenciación o apoptosis. La membrana basal y la matriz extracelular que ayuda a estructurar los nichos también ayuda a modular la concentración de estas moléculas. (21)

Tipos de células madre

Células madre embrionarias

Captan mucho la atención debido a que presentan un casi ilimitado potencial de desarrollo. Son células en estados temprano del desarrollo incluso antes de que la implantación se dé en el útero, estando en un estado indiferenciado (blastómeros), sin actuar o verse como un tejido especializado del adulto. Cada blastómero tiene potencial de dar origen a cualquier célula en el cuerpo.

Para que puedan crecer indiferenciadas mantener su estado indiferenciado, se utiliza en los cultivos, una proteína matriz con contenido de bFCG previamente condicionado con una capa alimentadora de fibroblastos embrionarios de ratón y suplemento de LIF (factor inhibidor de leucemia) para aprovechar su actividad bloqueadora de la diferenciación. La activación de la vía Wnt por 6-bromoindirubina-3-oxime (BIO) promueve la auto renovación de las células madre en la presencia de bFGF, en ausencia de alimentadores TGF β , LIF y bFGF pueden mantener algunas líneas de células madre. ⁽²²⁾

El estado de genes inexpressado (epigeneticamente modificado) y la estabilidad en varias condiciones del medio siguen sin ser estudiadas a fondo en CMeh (CMe humanas), que representan un problema potencial si son usadas en terapias de regeneración celular. Se puede lograr la derivación de células madre humanas usando la técnica de transferencia somática nuclear (SCNT). El núcleo somático humano es transferido en un oocito, que previamente ha sido extirpado de su propio material genético, y el resultado de transferencia ha sido cultivado in vitro, una vez cumplido 5 a 10 días, el complejo tiene alrededor de 40 células, al cabo de meses las células madre del individuo se han dividido en millones de células saludables en un estado de blastocito, obteniendo una línea de células madre embrionarias; dada la compatibilidad genética del donante, ésta no es rechazada por el sistema inmune del donante y así usada en terapia de trasplante. ⁽²³⁾

Células madre procedentes de carcinomas embrionarios (CMtc)

Las células del teratocarcinoma son células madre malignas que son capaces de diferenciarse in vivo en una gran variedad de tipos celulares, las líneas de células madre que son aisladas del mismo también son conocidas como líneas de células del carcinoma embrionario. Presentan una morfología, bioquímica y propiedades inmunológicas comunes con las células embrionarias multipotentes, por lo que se han usado in vitro como un modelo para el estudio del desarrollo embrionario. células madre extraídas de teratocarcinoma pueden participaren el desarrollo de una estructura normal adulta. ⁽²⁴⁾

Típicamente las CMtc se dividen en seminomas que consiste en células germinales de reensamble primordial, y no seminomas, son histológicamente heterogéneas, y frecuentemente contienen tejidos somáticos como nervios, hueso, músculo, etc.; contienen elementos histológicos indiferenciados que en contacto con su medio provocan su diferenciación o no.

Su diferenciación celular mediante tratamiento con ácido retinoico y cAMP durante un desarrollo temprano es ampliamente conocida. Las células tumorales aparecieron como consecuencia de un estable, pero reversible cambio epigenético en células embrionarias pluripotentes normales. Como células “transformadas” continúan proliferando en un estado indiferenciado porque la conversión neoplásica ha reducido su eficiencia de respuesta a las señales de diferenciación normales. ⁽²⁴⁾

Al aislar las CMtc, varias líneas fueron subsecuentemente estabilizadas, notablemente TERA1, TERA2 y SuSa, mostraron pequeña capacidad de diferenciación. El amplio uso de la sublínea clonal TERA2, NTERA2 cl.D1, fue re-aislada después de pasar por un medio de buena diferenciación de TERA2. La importancia de las CMtc es que permitieron ampliar, y fueron la vanguardia de estudio en el campo de las Células madre; plantearon interrogantes en la diferenciación celular y su interacción en un medio que permitiera el desarrollo final de un tejido con estructuras adultas.

Células madre adultas (CMA)

Su origen es de todos los tipos celulares somáticos presentes en el organismo adulto, las células pluripotentes de la masa interna del blastocito. La mayoría se encuentran en estado posmitótico (que raramente se dividen y multiplican), ejerciendo las funciones para lo que fueron programadas. Solo hay cuatro órganos en el ser humano que obvian esta regla, las células de la médula ósea, gónadas, hígado y los epitelios sobre todo el intestinal y el epidérmico, que están en continua renovación, presentes en microentornos definidos que regulan sus propiedades plásticas. Por otro lado, varios estudios han demostrado su eficacia para el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades mediante inoculación de estas mismas sobre el tejido a tratar, convirtiéndose en una esperanza para el futuro de la medicina regenerativa. ⁽²⁵⁾

Células madre linfohematopoyéticas

Derivan de un precursor más primitivo, común con el linaje endotelial, hemangioblasto, cuya existencia ha sido confirmada por diversos estudios experimentales en distintos estadios del desarrollo. Son originarias de la región del mesodermo denominado aorta-gónada-mesonefros (AGM), derivada de la esplanopleura para-aórtica. Están presentes en la médula ósea y en menor cantidad en la sangre periférica, se caracterizan por una gran relación núcleo: citoplasma, ausencia de marcadores de linaje (Lin-), bajo marcaje con tintes como Hoechst 33342 y la presencia de varios marcadores de superficie como CD34, CD90, CD117 (c-kit) y CD113. Estas células contribuyen a la reconstrucción de todas las líneas hematopoyéticas; han demostrado la capacidad para diferenciarse en linajes no conectivos como el endotelial y neuronal. Se han aislado células madre hematopoyéticas a partir de médula ósea, cordón umbilical, sangre periférica e hígado fetal. Uno de los aspectos más controvertidos es su capacidad para diferenciarse a células musculares cardíacas como en hepatocitos, sin embargo, no hay estudios que demuestren la diferenciación celular hacia un tejido diferente al hematopoyético por tanto no se les puede considerar como versátiles. ⁽²⁵⁾

Células madre no-linfohematopoyéticas

Células madre epidérmicas

En la capa basal de la epidermis se localizan dos tipos de queratinocitos con capacidad proliferativa, células madre epidérmicas con capacidad proliferativa limitada y células amplificadoras transitorias o TAC, con capacidad proliferativa más limitada, ambas con fenotipo p63+, también existen en el interior de los folículos pilosos, en el bulbo, de características más primitivas, con fenotipo CD34+/queratina15+/integrina α 6+, capaces de diferenciarse no solo en queratinocitos, sino también en folículos y glándulas sebáceas. Al aislarse estas células pueden mantenerse en cultivo durante más de 12 meses sin diferenciarse y puede inducirse diferenciación in vitro a neuroectodermo o linajes mesodérmicos. ⁽²⁵⁾

Células madre neurales

Su descubrimiento constituyó una gran sorpresa de la biología en inicios del siglo. Presentes en el cerebro adulto, tienen su origen de la cresta neural, principalmente en la región subventricular, el bulbo olfatorio y en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo. Su principal marcador es la nestina y su aislamiento mediante el cultivo celular en presencia de factores como EGF, bFGF, crecen como agregados esféricos en suspensión, neuroesferas, y representan agregados de células heterogéneas con células capaces de autorrenovarse y diferenciarse, que permiten obtener grandes cantidades de células madre neurales, en células neuronales como de la glía. Estudios han demostrado que al implantarse en diferentes lugares del cerebro son capaces de adaptarse al microambiente e integrarse con el resto de las células. Las células madre neurales presentan también capacidad in vitro para diferenciarse en células endoteliales en ausencia de fusiones celulares y por tanto demostrando un grado de versatilidad importante. ⁽²⁶⁾

Células madre mesenquimales

La médula ósea contiene otro tipo de células madre denominadas células madre mesenquimales o estromales, las cuales son fibroblastoides precursoras de todos los tipos de tejidos conectivos no hematopoyéticos. No solo están confinadas a la médula ósea, sino también en el estroma de virtualmente todos los órganos, por ejemplo, en el tejido adiposo subcutáneo o el cartílago articular. Se han descrito distintos marcadores de superficie que han permitido identificar y aislar células madre mesenquimales, como SH2, SH3, CD29, CD44, CD71, CD90 y CD106; son capaces de diferenciarse en tejidos mesodérmicos funcionales, como osteoblastos, condroblastos, adipocitos, mioblastos esqueléticos y en algunos casos células derivadas del neuroectodermo sin embargo no está demostrado que adquieran características funcionales de éstas últimas. Constituyen un modelo muy útil en aplicaciones clínicas para un número de enfermedades en terapia regenerativa. Una característica interesante es que poseen actividad inmunoreguladora, como inhibición de la activación de células T, B, NK y maduración de células dendríticas. Otros estudios han demostrado que pueden desempeñar una acción paracrina beneficiosa para la reparación de los tejidos mediante la secreción de moléculas bioactivas tales como los factores de crecimiento, citosinas y quimiocinas. Dada su relativa facilidad de obtención y elevada capacidad de diferenciación son uno de los tipos de células madre más empleados en terapias regenerativas dado que presentan un potencial terapéutico prometedor.⁽²⁶⁾

Terapia celular con células madre adultas

Los avances con células madre han sido enormes en la última década, aunque a paso lento dada la fragilidad como materia de investigación sin contar con que no es completamente eficaz el control que se tiene sobre los sistemas de desarrollo. Las aplicaciones de células madre las podemos dividir en terapias regenerativas, como en patologías neurodegenerativas, patologías cardíacas, diabetes, traumatología, etc; y en terapias de conducción genética, en enfermedades monogénicas como la hemofilia o incluso en terapias antitumorales o antiangiogénicas; la tecnología asociada a la manipulación de

células madre está comenzando a tomar fuerza y nos plantea un futuro prometedor en todos estos campos. ⁽²⁷⁾

Terapias regenerativas con CMA:

Tiene como objetivo estimular o regenerar células, tejidos u órganos con la finalidad de restaurar o establecer una función normal. Se basa en el injerto de células nativas del tejido (ej., miocitos o condrocitos, etc.) o células madre capaces de diferenciarse en células somáticas, se mantiene como una gran promesa para el tratamiento de enfermedades degenerativas crónicas, si los obstáculos clínicos no se interpusieran, en especial su posible propiedad tumoral. La regeneración de daño a tejidos u órganos implica la existencia de células capaces de proliferar, diferenciarse y dar una contribución funcional al proceso regenerativo. No solo se limita al empleo de células madre, también incluye la aplicación de diversos factores estimuladores y otros elementos insolubles que intervienen en procesos biológicos.

Potencial de las células madre derivadas de la grasa en terapias regenerativas

Actualmente la literatura está repleta con evidencia que el tejido adiposo contiene fácilmente disponible, abundante, y una expansible fuente de CMA que pueden ser dirigidas hacia muchos linajes diferentes. Un gramo de tejido adiposo produce aproximadamente 5,000 CM, que es 500 veces más que el número de CM aisladas de un gramo de MO, por lo que el tejido adiposo es fácilmente una rica fuente de CMA. ⁽²⁸⁾

El tejido adiposo, como la MO, derivan del mesoderma embrionario y contienen una población heterogénea de células estromales; Esta población celular, llamada “proprocessed lipoaspirates (PLA)”, que pueden ser aisladas del tejido adiposo en una cantidad significativa y exhibe un crecimiento estable y proliferación en su medio, se pueden diferenciar in vitro en linajes osteogénicos, adipogénico, miogénico y condrogénico cuando son estabilizadas en factores específicos de linaje; en similitud con CMm presenta una serie de marcadores CD, CD29, CD44, CD71, CD90, CD105/SH2, SH3 y CD106, algunos fueron identificados como

funcionales en el proceso de hematopoyesis, así como otros para coadyuvar en el proceso de diferenciación hacia otros linajes; estas similitudes, junto con la identificación de CMm en muchos tejidos, hacen posible el concepto de que una población de CM pueda ser aisladas del tejido adiposo humano. ⁽²⁸⁾

Las células madre del tejido adiposo (ACS; del inglés Adypose Stem Cells) se obtienen del tejido adiposo subcutáneo tras un proceso de lavado, digestión enzimática (colagenasa) y centrifugación que finalmente permiten obtener un pellet o sedimento en la zona terminal del tubo que contiene la fracción vascular estromal (SVF). La SVF contiene los diferentes componentes del tejido adiposo excepto la mayoría del volumen de adipocitos y la parte oleosa que se descartan en el sobrenadante, dependiente de la zona de obtención del tejido adiposo, el porcentaje del ASC difiere; tejido adiposo del abdomen 5% y cadera o muslo 1%.

Para obtener las ASC, la SVF se coloca en un cultivo en medio estándar y suero bovino fetal (10%), y se selecciona en sucesivos lavados las células adherentes al plástico, purificando la población de ASC de otros tipos celulares presentes en la SVF. ⁽²⁹⁾

A finales de 2012, Tonnard y cols. describieron el uso de Nanofat como una infiltración intradérmica de grasa emulsionada para el rejuvenecimiento de la piel. La principal diferencia en comparación con las otras técnicas de injerto de grasa conocidas hasta entonces está en que en ella no hay adipocitos viables en el contenido inyectado, mientras que las ADSC mantienen sus propiedades funcionales. Los resultados obtenidos en el estudio realizado por Tonnard fueron excelentes, mejorando la calidad general de la piel y reduciendo las áreas de pigmentación. Aunque los autores concluyeron que el principal efecto de la inyección de nanofat estaba probablemente relacionado con una actividad de las células madre, no está claro cuál es la causa de esta mejoría, no pudiendo descartarse la hipótesis de un efecto paracrino de estas células madre. ⁽³⁰⁾

Método de obtención de Nanofat

La técnica de Tonnard se resume de la siguiente manera.

Se realiza infiltración del abdomen inferior con una solución modificada de Klein (800 mg de lidocaína / 11 ml de suero salino y 1 ml de adrenalina en dilución 1: 1.000.000). Se extrae la grasa usando un dispositivo de liposucción estándar con una cánula de 3 mm multipuerto, con agujeros laterales de 1 mm de diámetro (Tulip® Medical Products, EE.UU.).

Posteriormente, se lava esa grasa con solución salina colocada sobre una malla de nylon sobre un recipiente estéril, donde se le agrega solución salina, y posteriormente se filtra a través de esta malla que tiene poros de 0.5 mm de diámetro; se realiza la emulsificación y se filtra nuevamente sobre la misma malla de nylon. La emulsión del lipoaspirado se hace mecánicamente por desplazamiento de la grasa entre dos jeringas de 10 ml conectadas entre sí mediante un conector *luer-lok* hembra a hembra. A través de 30 pases, la grasa se transforma en una emulsión. Después de este proceso, el líquido graso se en un recipiente estéril. Este producto adiposo es lo que denomina nanofat.

Finalmente se inyecta el producto obtenido de este procedimiento con una aguja fina, de calibre 27G, a nivel intradérmico y subdérmico, en trazado de abanico o multipunción.⁽³⁰⁾

DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio

Estudio cuasiexperimental

Área de estudio

Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello-León.

Tiempo de estudio

Del 01 de enero de 2019 al 30 de Septiembre de 2022.

Población de estudio

Fueron 23 pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello.

Criterios de Inclusión

- Pacientes que aceptaron el procedimiento quirúrgico y firmen consentimiento informado para realizar el procedimiento.
- Pacientes con pie diabético que clínicamente no tengan datos de infección.
- Pacientes con úlcera isquémica en la extremidad inferior que no cicatriza $>3\text{cm}^2$
- Paciente que no tengan comorbilidades que pongan en riesgo la vida, siendo estos cardiopatas agudos, cáncer, o condición con un pronóstico de vida menor de seis meses.

Criterios de Exclusión.

- Pacientes que no desearon por su propia voluntad participar en el estudio.
- Pacientes con estenosis significativa del 75% de la Arteria Tibial Anterior, Tibial Posterior o Pedia.

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

Procesamiento de la Información: Por medio de la ficha estructurada, se recopiló los datos de interés para dar cumplimiento a los objetivos. Se procesaron los datos en 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 a la directora del Hospital Óscar Danilo Rosales Arguello, Dra. Judith Lejarza. 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 madre mediante la técnica Nanofat que recibieron los pacientes en el quirófano del tercer piso de esta unidad hospitalaria. Se revisaron los criterios de Helsinki.

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Definición	Escala
Edad	Tiempo transcurrido en años que tiene una persona desde el nacimiento hasta el momento del estudio.	40-49 50-59 >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 al momento del estudio	Analfabeto Primaria Secundaria Universidad
Estado Civil	Condición social al momento del estudio	Soltero. Acompañado/Casado Viudo.
Comorbilidades	Patologías crónicas que el paciente presenta al momento del estudio	Enfermedad Renal Hipertensión Arterial. Cardiópata. Asma Bronquial Ninguna
Tamaño de la lesión	Magnitud o dimensión de la úlcera antes y después de la aplicación de Nanofat	Medida en centímetros cuadrados con regla al ingreso, a los tres meses y seis meses.
Eventos no deseados durante y después del procedimiento	Eventos no deseados que los pacientes presentaron durante se les ha practicado la liposucción y el injerto de Nanofat	Hematoma Infección Sangrado Dolor

Pacientes Hospitalizados después del procedimiento.	Pacientes que se ingresaron en sala de Ortopedia del hospital para manejo de las úlceras y/o gangrena.	Sí. No.
Cambios imagenológicos	Cambios significativos en estudios de ultrasonido Doppler arterial, desde el ingreso, tres meses y a los seis meses posterior a la aplicación de Nanofat	Velocidad pico-sistólica (VPS) Índice de pulsatilidad (IP) en la tibial anterior, dorsal pedia, tibial posterior

RESULTADOS

Tabla 1. Características sociodemográficas de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022.

Características sociodemográficas		Total (n=23)	
		No.	%
Edad	40-49	6	26.1
	50-59	9	39.1
	>60	8	34.8
Sexo	Masculino	14	60.9
	Femenino	9	39.1
Estado Civil	Soltero	1	4.3
	Acompañado/ Casado	19	82.6
	Viudo	3	13.0
Escolaridad	Primaria	13	56.5
	Secundaria	6	26.1
	Universidad	4	17.4
Procedencia	Urbana	14	60.9
	Rural	9	39.1

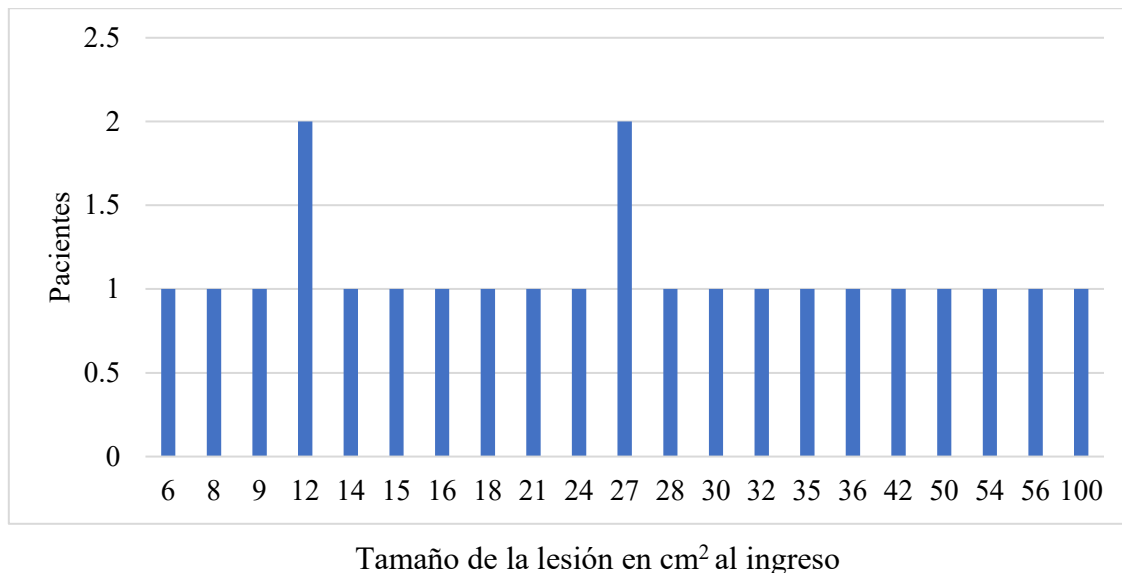
Las principales características sociodemográficas de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022 fueron: Edad entre 50-59 años (39.1%), sexo masculino (60.9%), acompañado/casado (82.6%), escolaridad primaria (56.5%) y de procedencia urbana (60.9%). (Tabla 1). El promedio de edad de los pacientes fue de 55.52 años, la mediana de 55 años y las edades extremas fueron de 43 y 71 años.

Tabla 2. Comorbilidades de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022.

Comorbilidades	Total (n=23)	
	No.	%
Enfermedad Renal	7	30.4
Hipertensión Arterial	11	47.8
Cardiopatía	2	8.7
Asma Bronquial	1	4.3
Ninguna	2	8.7

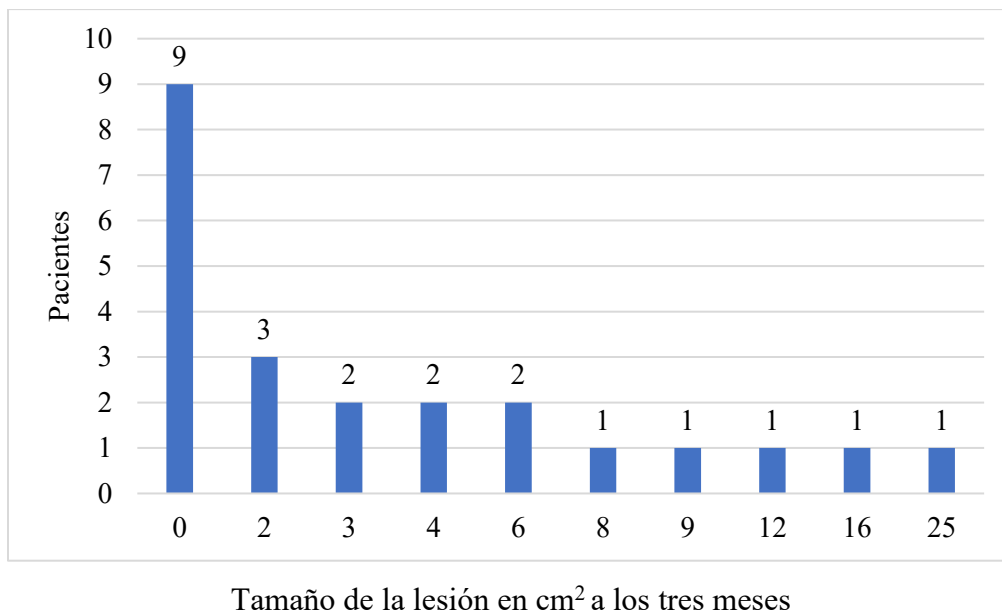
Se presentan las comorbilidades asociadas con los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat predominando: Hipertensión Arterial (47.8%) y la Enfermedad Renal (30.4%). (Tabla 2)

Gráfico 1 Tamaño de la lesión en cm² al ingreso de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022. Total (n=23)



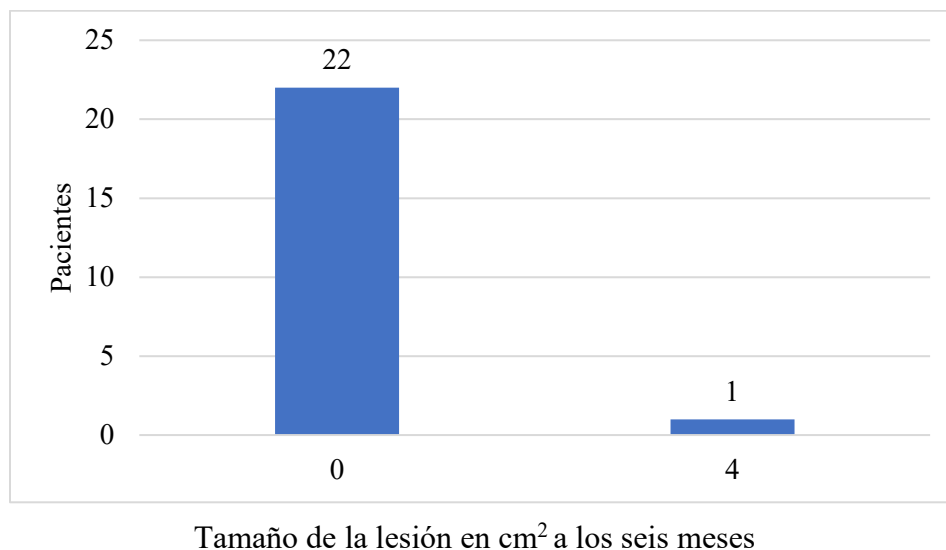
Los 23 pacientes presentan al momento del ingreso lesiones con tamaños que varían de 6 cm² a 100 cm² con un tamaño promedio de lesión de 29.22 cm². (Gráfico 1)

Gráfico 2 Tamaño de la lesión en cm² a los tres meses en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022. Total (n=23)



El 39.1% de los pacientes presenta cierre completo de la lesión a los tres meses de seguimiento, con un promedio de 4.43 cm² de tamaño de lesión en el resto de los pacientes. (Gráfico 2)

Gráfico 3. Tamaño de la lesión en cm² a los seis meses en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022 . Total (n=23)



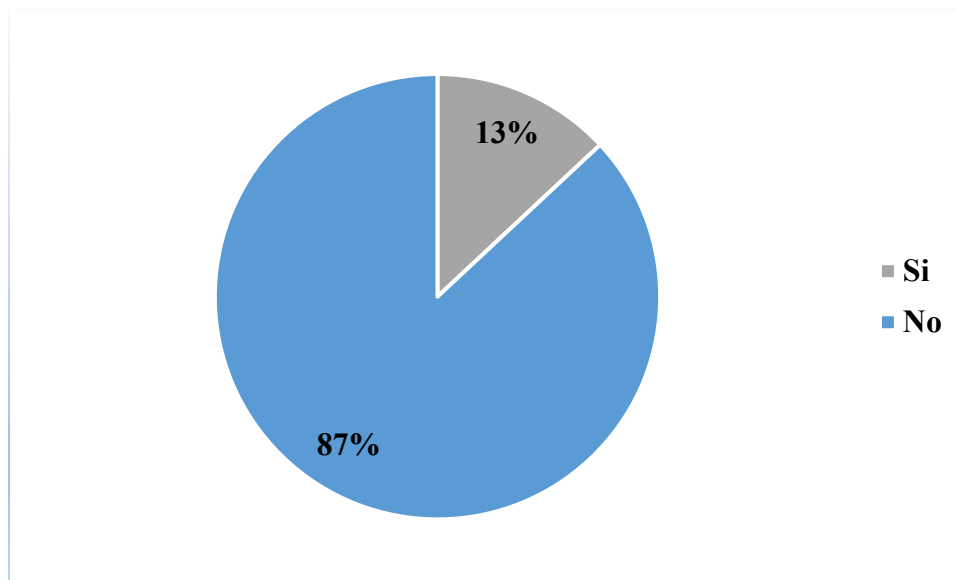
El 95.7 % de los pacientes presenta cierre completo de la lesión a los seis meses de seguimiento, 1 paciente cerró completamente después de este periodo de seguimiento. (Gráfico 2)

Tabla 3. Eventos no deseados que se presentaron en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022.

Reacciones adversas	Total (n=23)	
	No.	%
Hematoma	2	8.7
Infección	2	8.7
Sangrado	6	26.1
Dolor	13	56.5

Los eventos no deseados que se presentaron en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat fueron: Dolor (56.5%), Sangrado (26.1%) Hematoma (8.7%) e Infección (8.7%). (Tabla 3).

Gráfico 4. Hospitalización después del procedimiento en pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de septiembre de 2022. Total (n=23)



El (87%) de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat no requirieron hospitalización después del procedimiento, el (13%) se hospitalizó por eventos no deseados como infección. (Gráfico 4)

Tabla 4. Cambios en la Velocidad del Flujo Picosistólico (VFP) y el Índice de Pulsatilidad (IP) en el ultrasonido Doppler realizado en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat. Total (n=23)

Pacientes		Velocidad del Flujo Picosistólico			Índice de Pulsatilidad		
		TA	DP	TP	TA	DP	TP
1	Inicio	49	43	46	2.1	5.3	4.1
	3 meses	60	55	56	6.1	6.2	6.3
	6 meses	65	60	60	7.2	6.5	7.5
2	Inicio	40	40	19	2.1	1.2	2.2
	3 meses	65	56	45	7.2	7.0	7.1
	6 meses	65	60	55	7.5	7.0	7.5
3	Inicio	50	45	26	2.1	1.2	1.3
	3 meses	56	52	56	5.2	6.0	5.6
	6 meses	60	60	65	6.0	6.5	7.0
4	Inicio	55	45	35	2.5	2.3	2.2
	3 meses	65	56	56	5.2	6.0	5.3
	6 meses	65	58	60	6.1	6.5	7.0
5	Inicio	40	40	19	2.1	1.2	6.1
	3 meses	55	56	45	6.2	6.3	7.2
	6 meses	60	60	55	6.2	6.5	7.0
6	Inicio	40	40	45	4.2	4.1	4.1
	3 meses	65	56	45	6.2	7.1	6.5
	6 meses	65	60	65	6.2	7.4	7.5
7	Inicio	65	56	46	2.5	2.3	4.3
	3 meses	65	60	50	2.5	4.3	5.2
	6 meses	65	65	65	4.5	5.1	6.0
8	Inicio	39	22	46	2.0	1.3	2.5
	3 meses	55	40	46	4.5	4.6	5.3
	6 meses	55	50	55	5.0	5.3	6.0
9	Inicio	40	40	20	2.1	1.2	2.3
	3 meses	65	56	45	7.0	6.0	6.2
	6 meses	65	60	65	7.0	6.4	7.0

Continuación. Tabla 4. Cambios en la Velocidad del Flujo Picosistólico (VFP) y el Índice de Pulsatilidad (IP) en el ultrasonido Doppler realizado en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat. Total (n=23)

Pacientes		Velocidad del Flujo Picosistólico			Índice de Pulsatilidad		
		TA	DP	TP	TA	DP	TP
10	Inicio	55	45	56	2.1	1.2	2.3
	3 meses	65	55	55	6.3	6.2	5.6
	6 meses	65	60	65	6.5	6.0	6.5
11	Inicio	40	40	19	2.5	2.3	2.2
	3 meses	65	56	59	5.3	5.2	6.2
	6 meses	65	60	65	6.0	6.5	7.0
12	Inicio	49	43	46	2.1	5.3	4.1
	3 meses	60	55	56	6.1	6.2	6.3
	6 meses	65	60	60	7.2	6.5	7.5
13	Inicio	40	40	19	2.1	1.2	2.2
	3 meses	65	56	45	7.2	7.0	7.1
	6 meses	65	60	55	7.5	7.0	7.5
14	Inicio	50	45	26	2.1	1.2	1.3
	3 meses	56	52	56	5.2	6.0	5.6
	6 meses	60	60	65	6.0	6.5	7.0
15	Inicio	55	45	35	2.5	2.3	2.2
	3 meses	65	56	56	5.2	6.0	5.3
	6 meses	65	58	60	6.1	6.5	7.0
16	Inicio	40	40	19	2.1	1.2	6.1
	3 meses	55	56	45	6.2	6.3	7.2
	6 meses	60	60	55	6.2	6.5	7.0
17	Inicio	40	40	45	4.2	4.1	4.1
	3 meses	65	56	45	6.2	7.1	6.5
	6 meses	65	60	65	6.2	7.4	7.5
18	Inicio	65	56	46	2.5	2.3	4.3
	3 meses	65	60	50	2.5	4.3	5.2
	6 meses	65	65	65	4.5	5.1	6.0

Continuación. Tabla 4. Cambios en la Velocidad del Flujo Picosistólico (VFP) y el Índice de Pulsatilidad (IP) en el ultrasonido Doppler realizado en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat. Total (n=23)

Pacientes		Velocidad del Flujo Picosistólico			Índice de Pulsatilidad		
		TA	DP	TP	TA	DP	TP
19	Inicio	39	22	46	2.0	1.3	2.5
	3 meses	55	40	46	4.5	4.6	5.3
	6 meses	55	50	55	5.0	5.3	6.0
20	Inicio	40	40	20	2.1	1.2	2.3
	3 meses	65	56	45	7.0	6.0	6.2
	6 meses	65	60	65	7.0	6.4	7.0
21	Inicio	55	45	56	2.1	1.2	2.3
	3 meses	65	55	55	6.3	6.2	5.6
	6 meses	65	60	65	6.5	6.0	6.5
22	Inicio	40	40	19	2.5	2.3	2.2
	3 meses	65	56	59	5.3	5.2	6.2
	6 meses	65	60	65	6.0	6.5	7.0
23	Inicio	39	22	46	2.0	1.3	2.5
	3 meses	55	40	46	4.5	4.6	5.3
	6 meses	55	50	55	5.0	5.3	6.0

Media	Inicio	46.30	40.61	34.78	2.378	2.104	3.022
Media	3 meses	61.61	53.74	50.52	5.639	5.913	6.026
Media	6 meses	62.83	58.96	61.09	6.213	6.322	6.891
		TA	DP	TP	TA	DP	TP
		Velocidad del Flujo Picosistólico			Índice de Pulsatilidad		

Se presenta aumento en la Velocidad del Flujo Picosistólico (VFP) y el Índice de Pulsatilidad (IP) en el ultrasonido Doppler realizado en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat en las arterias Tibial Anterior (TA) 26.3%, Dorsal Pedia (DP) 31.1% y Tibial Posterior (TP) 38.1%

DISCUSIÓN

Las principales características sociodemográficas de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello durante el periodo de estudio fueron edad entre 50-59 años (39.1%), sexo masculino (60.9%), acompañado (43.5%), escolaridad primaria (56.5%) y de procedencia urbana (60.9%). En el segundo estudio en el MINSA en 2018 de fracción vascular estromal para insuficiencia vascular periférica, había 25 hombres y 35 mujeres con edades comprendidas entre los 35 y los 70 años. ⁽¹⁵⁾

Las comorbilidades asociadas con los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat predominaron Hipertensión Arterial (47.8%) y la Enfermedad Renal (30.4%).

En 2014 en el departamento de Cirugía del Hospital Escuela Dr. Óscar Danilo Rosales Argüello de León, en un estudio sobre 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 se observó 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. ⁽¹³⁾

Los 23 pacientes presentan al momento del ingreso lesiones con tamaños que varían de 6 cm² a 100 cm² con un tamaño promedio de lesión de 29.22 cm². En el estudio en el MINSA en 2018 de fracción vascular estromal para insuficiencia vascular periférica, las heridas en este estudio variaron en tamaño de 9 cm² (3 cm x 3 cm) a 120 cm² (15 cm x 8 cm) con un tamaño medio de herida de 32,9 cm². ⁽¹⁵⁾

El 39.1% de los pacientes presenta cierre completo de la lesión a los tres meses de seguimiento, con un promedio de 4.43 cm² de tamaño de lesión en el resto de los pacientes.

El 95.7 % de los pacientes presenta cierre completo de la lesión a los seis meses de seguimiento, 1 paciente cerró completamente después de este periodo de seguimiento.

En el estudio en el MINSA las heridas demostraron una respuesta de curación rápida a la infusión de fracción vascular estromal. El tiempo promedio para una respuesta visible de la herida fue de 1 a 2 meses, con cierres completos informados entre 3 y 5 meses. A los 6 meses de seguimiento, 55 pacientes se presentaron para el seguimiento con un 100% de cierre en 49, un 95% de cierre en 4 y un 75% de cierre en 2. ⁽¹⁵⁾

Los eventos no deseados que se presentaron en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat fueron: Dolor (56.5%), Sangrado (26.1%) Hematoma (8.7%) e Infección (8.7%).

En los estudios realizados están reflejadas las reacciones observadas comunes en los pacientes que recibieron la terapia con células madre, 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 madre, presentaron dolor posterior del procedimiento coincidiendo que cuatro de estos pacientes recibieron más de diez punciones y se les trató ambos miembros Inferiores. ⁽¹³⁾

El (87%) de los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat no requirieron hospitalización después del procedimiento, el (13%) se hospitalizó por eventos no deseados como infección.

En los estudios se observa que el 60% de pacientes que han recibido terapia con células madre no necesitaron hospitalización posterior al procedimiento. Un 40% tuvo que hospitalizarse para manejo de la úlcera y/o isquemia. ⁽¹³⁾

El aumento en la Velocidad del Flujo Picosistólico (VFP) y el Índice de Pulsatilidad (IP) en el ultrasonido Doppler realizado en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat se evidenció en las arterias Tibial Anterior (TA) 26.3%, Dorsal Pedia (DP) 31.1% y Tibial Posterior (TP) 38.1%.

En los estudios realizados los resultados de valoración Doppler fueron también llamativos. En las arterias tanto dorsal como plantar, se notaron cambios prácticamente universales en la forma de onda, la velocidad pico-sistólica y el índice de pulsatilidad. En suma, estos hallazgos reflejan el desarrollo de un sistema de microcirculación nueva en el pie tratado que corresponden 100% con el saneamiento de la úlcera. ⁽¹⁵⁾

CONCLUSIONES

- 1- Las principales características sociodemográficas fueron: edad entre 50-59 años (39.1%), sexo masculino (60.9%), acompañado (43.5%), escolaridad primaria (56.5%) y de procedencia urbana (60.9%).
- 2- El 95.7 % de los pacientes presenta cierre completo de la lesión a los seis meses de seguimiento.
- 3- Se evidenció aumento en la Velocidad del Flujo Picosistólico (VFP) y el Índice de Pulsatilidad (IP) en el ultrasonido Doppler realizado en los pacientes con pie diabético tratados con Nanofat en las principales que irrigan el pie: arterias Tibial Anterior (TA) 26.3%, Dorsal Pedia (DP) 31.1% y Tibial Posterior (TP) 38.1%.
- 4- Este estudio muestra un beneficio clínico para pacientes con heridas diabéticas complejas en los que se utiliza Nanofat. Los estudios Doppler documentan la evidencia de cambios físicos que tienen lugar en el lecho de tejido isquémico distal subyacente a la úlcera y en las características estructurales de las arterias crurales que irrigan el pie. Reconociendo que se requieren estudios adicionales, este estudio apunta a un posible nuevo estándar de atención en el tratamiento de úlceras diabéticas complejas para evitar futuras amputaciones, mejorar la calidad de vida y ahorrar costos de atención médica y fondos de discapacidad.

RECOMENDACIONES

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

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 los materiales necesarios para poder administrarles células madre autólogas a los pacientes que quieran este método terapéutico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bommer, C., Sagalova, V., & Hesseman, E. (2018). Global economic burden of diabetes in adults: projections from 2015 to 2030. *Diabetes Care*, 963-970.
2. Khalifa, W. (2017). Risk factors for diabetic foot ulcer recurrence: a prospective 2-year follow-up study in Egypt. *Foot* 35, 11-15.
3. Malik, R. (2014). Pathology of human diabetic neuropathy. *Handb. Clin. Neurol.*, 249-259.
4. Lu, D., Chen, B., & Liang, Z. (2011). Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 26-36.
5. Zeng, X., Tang, Y., & Hu, K. (2017). Three week tropical treatment with placenta derived mesenchymal stem cells hydrogel in a patient with diabetic foot ulcer: a case report. *Medicine*.
6. Timmins , N., Kiel, M., & Gunther, M. (2012). Closed System isolation and scalable expansion of human placental mesenchymal stem cells. *Biotechnol. Bioeng.*, 1817-1826.
7. Konno, M., Hamabe, A., & Hasegawa, S. (2013). Adipose-derived mesenchymal stem cells and regenerative medicine. *Dev. Growth Differ*, 309–318.
8. Ebrahimian , T., Pouzoulet, F., & Squiban, C. (2009). Cell therapy based on adipose tissue-derived stromal cells promotes physiological and pathological wound healing . *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 503–510.
9. Rehman, J., Traktuev, D., & Li, J. (2004). Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*, 1292–1298.
10. Halme , D., & Kessler, D. (2006). FDA regulation of stem-cell-based therapies. *N. Engl. J. Med.* 355(16), 1730–1735.

11. Tonnard , P., Verpaele, A., Peeters , G., Hamdi, M., Cornelissen , M., & Declercq, M. (2013). Nanofat grafting: basic research and clinical applications. *Plast. Reconstr. Surg.* 132(4), 1017–1026.
12. Lu, D., Chen, B., Liang, Z., Deng, W., Jiang, Y., Li, S., . . . Chen, S. (2010). Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: A double-blind, randomized, controlled trial. *Diabetes Research and Clinical Practice*.
13. Ocón Benavides, M. J. (2014). 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.
14. Carstens MH, Gomez A, Cortes R, Turner E, Perez C, Ocon M, Correa D. Non-reconstructable peripheral vascular disease of the lower extremity in ten patients treated with adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) cells. *Cell Stem Cell* 2017; 18: 14-21.
15. Carstens MH, Quintana F, Calderwood S, Sevilla J, Ríos A, Rivera C, Calero D, Zelaya M, Treatment of chronic diabetic foot ulcers with adipose-derived stromal vascular fraction cell injections: Safety and evidence of efficacy at 1 year. *Stem Cell* 2021, 1-10.
16. Benard, A. (2011). Biología de las células madre. *Biología Aplicada a la Salud Humana. Epub.*
17. Verfaillie, C. (2009). Pluripotent stem cells. *Transfusion Clinique et Biologique. Epub.*
18. Izpisua, J. (2014). Células madre, reprogramación celular y medicina regenerativa: ¿Realidad o ciencia ficción? Universidad Católica San Antonio. *Epub.*
19. Park IH, L. P. (2008). Generation of human-induced pluripotent stem cells.

20. Thomson JA, I.-E. J. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*.
21. Watt FM, H. B. (2000). Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*.
22. Amit M, S. C.-E. (2004). Feeder layer- and serum-free culture of human embryonic stem cells.
23. Martin, G. (2008). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells.
24. Weigel , R., Devoto , S., & Nevins, J. (1990). Adenovirus 12S E1A gene represses differentiation of F9 teratocarcinoma cells.
25. Serrano, H., & Martín, C. (2007). Enfermedad arterial periférica: aspectos fisiopatológicos, clínicos y terapéuticos. . *Rev Esp Cardiol Madrid, España*.
26. Clarke , D., Johansson, C., Wilbertz, J., Veress , B., Nilsson, E., & Karlstrom, H. (2000). Generalized potential of adult neural stem cells. . *Science*.
27. Stoltz, J., de Isla, N., Li, Y., & Bensoussan, D. (2005). Stem Cells and Regenerative Medicine: Myth or Reality of the 21th Century.
28. Katz , A., & Mericli, A. (2010). Stem Cells Derived from Fat. In: Anthony Atala RL, James A. *Principles of Regenerative Medicine*.
29. Zuk, P., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D., Huang , J., & Mizuno, H. (2011). Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*.
30. Planas, J., Muñoz, J., & González, D. (2017). Descripción de un nuevo sistema cerrado de procesamiento de grasa para la obtención de nanofat: análisis de resultados clínicos y citométricos. *Cir. plást. Iberolatinoam.-Vol. 43 - N° 1, 23-32*.

ANEXOS

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Estudio descriptivo sobre la terapia con Nanofat en pacientes con pie diabético ingresados en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello del 01 de enero de 2019 al 30 de Septiembre de 2022.

1. Nombre del paciente: _____

I. Características sociodemográficas:

2. Edad: _____ Sexo: _____

3. Estado civil: a) Soltero. b) Acompañado/Casado. c) Viudo.

4. Escolaridad: a) Analfabeto. b) Primaria. c) Secundaria
f) Universidad

5. Procedencia: a) Urbana b) Rural

6. Patologías asociadas a Diabetes Mellitus:

a) Enfermedad Renal b) Hipertensión Arterial. c) Cardiopatía. d) Asma Bronquial.
e) Ninguna

7. Tamaño de la lesión: Ingreso: _____ cm². Tres meses: _____ cm²
Seis meses: _____ cm²

8. Reacciones Adversas durante y después del procedimiento

a) Hematoma. b) Infección c) Sangrado. e) Dolor.

9. Hospitalización después del procedimiento para manejo de la úlcera y/o gangrena

a) Si b) No

10. Cambios en el ultrasonido Doppler:

Al ingreso: Velocidad picosistólica: TA: __ DP: __ TP: __

Índice de pulsatilidad: TA: __ DP: __ TP: __

A los tres meses: Velocidad picosistólica: TA: __ DP: __ TP: __

Índice de pulsatilidad: TA: __ DP: __ TP: __

A los seis meses: Velocidad picosistólica: TA: __ DP: __ TP: __

Índice de pulsatilidad: TA: __ DP: __ TP: __

24/04/20 Inicio



24/07/20 3 meses

