Facultad de Medicina
Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades de Puebla
Centro Médico Nacional Gral. de Div. Manuel Ávila Camacho

Eficacia clínica del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP

Tesis para obtener el Diploma de Especialidad en "Cirugía General"

Presenta:
Dra. Saida Anyul Abud Flores
Director
Dr. Arturo García Galicia
Asesor
Dr. Carlos Alberto López Bernal
Dr. Álvaro José Montiel Jarquín

N° de registro: R-2022-2102-023

H. Puebla de Z. NOVIEMBRE 2023

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS

Coordinación de Investigación en Salud

Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **2101**.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL GRAL. DIV. MANUEL AVILA CAMACHO

Registro COFEPRIS **17 CI 21 114 055**
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 21 CEI 002 2018073**

FECHA **Martes, 21 de junio de 2022**

M.C. Arturo Garcia Galicia

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Eficacia clínica y en calidad de vida del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional
R-2022-2101-023

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. JOSE ALVARO PARRA SALAZAR
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 2101

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN Salud

Dictamen de Aprobado

Comité de Ética en Investigación **21018**.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL GRAL. DIV. MANUEL AVILA CAMACHO

Registro COFEPRIS **17 CI 21 114 055**
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 21 CEI 002 2018073**

FECHA **Viernes, 17 de junio de 2022**

M.C. Arturo García Galicia

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Eficacia clínica y en calidad de vida del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional
Sin número de registro

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

M.C. Georgina Guadalupe Quiroz Bayardo
Presidente del Comité de Ética en Investigación No. 21018

Imprimir

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

CENTRO MÉDICO NACIONAL
"GRAL. DE DIV. MANUEL ÁVILA CAMACHO"
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DE PUEBLA
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD

PUEBLA, PUE., A 6 noviembre 2023

AUTORIZACION DE IMPRESIÓN DE TESIS DE ESPECIALIDAD

LOS ASESORES:

Dr. Arturo García Galicia, Dr. Carlos Alberto López Bernal, Dr. Álvaro José Montiel Jarquín.

DE LA TESIS TITULADA:

Eficacia clínica del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP

REALIZADA POR EL MÉDICO RESIDENTE: **Dra. Saida Anyul Abud Flores**

DE LA ESPECIALIDAD: **Cirugía General**

HACEMOS CONSTAR QUE ESTE TRABAJO CIENTIFICO HA SIDO REVISADO Y AUTORIZADO EN EL SIRELCIS CON **NÚMERO DE REGISTRO NACIONAL**: **R-2022-2102-023**

AUTORIZAMOS SU IMPRESIÓN

Dr. Carlos Alberto López Bernal

Dr. Arturo García Galicia

Dr. Álvaro José Montiel Jarquín.

CARTA COMPROMISO

Puebla, Puebla, a 23 de octubre de 2023

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
PRESENTE

El (la) suscrito (a) Saida Anyul Abud Flores, en mi calidad de estudiante y habiendo sido beneficiario de la especialización médica/maestría/doctorado en Cirugía General de fecha Marzo 2020- marzo 2024 manifiesto bajo protesta de decir verdad que soy autor del trabajo de Tesis titulado:

Eficacia clínica del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP

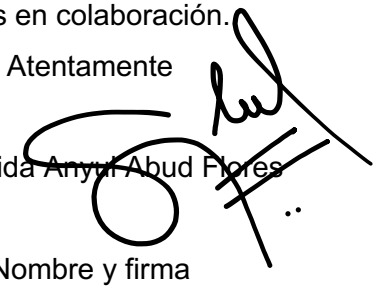
El cual ha sido asesorado por el (los) doctor (es):

Dr. Arturo García Galicia, Dr. Carlos Alberto López Bernal, Dr. Álvaro José Montiel Jarquín.

En las instalaciones del Instituto Mexicano del Seguro Social. Por tanto, para fines de divulgación y publicación sobre la metodología, resultados y/o otra información desarrollada durante el proyecto, reconozco que deberé contar con la autorización escrita de todos los autores.

Asimismo, manifiesto que en caso de que el presente trabajo implique derechos de propiedad industrial e intelectual como resultado de su desarrollo, tomando en consideración que será producto de una investigación practicada en las instalaciones del Instituto y con pacientes, equipos, materiales y diversos instrumentos de su propiedad, se reconoce como legítimo propietario de dicha novedad al Instituto Mexicano del Seguro Social; en donde el suscrito participa en colaboración con mi (los) asesor (es), por lo que mi colaboración y derechos estará sujeta al porcentaje de autoría que corresponda a mi participación en relación con los demás autores en colaboración.

Atentamente



Dra. Saida Anyul Abud Flores

Nombre y firma

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, le agradezco a mis padres, Julián y Linda, que siempre me han brindado el ejemplo de esfuerzo y tenacidad, así como su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos personales y profesionales; ustedes han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles, durante mis horas de estudio velando mi sueño y acompañándome hasta en los escasos minutos libres durante las largas jornadas. ¡Siempre han sido mis mejores guías de vida! dándome siempre fuerzas para alcanzar mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades. Orgullosa de tenerlos como mis padres y que estén a mi lado en este momento tan importante. Gracias por ser quienes son y por creer en mí.

Les agradezco muy profundamente a mis hermanas por su dedicación y paciencia, sin sus palabras y correcciones precisas no hubiese podido lograr llegar a esta instancia tan anhelada; gracias por su guía y todos sus consejos que me han brindado toda la vida a lo largo de cada una de mis etapas. TFC te rifaste.

Héctor, mi amor, mi cómplice y colega, gracias por las horas compartidas, los trabajos realizados en conjunto, los consejos, apoyo, amor incondicional y todas y cada una de las historias vividas, eres mi inspiración y mi motivación.

Dr. López Bernal ¡gracias por creer en mí! Por apoyarme para realizar este trabajo en este tema poco investigado; muchas gracias por sus palabras de aliento cuando más las necesité y por estar allí cuando mis horas de trabajo se hacían equívocas.

Son muchos los docentes e instituciones que han sido parte de mi camino universitario, que me han impulsado y han visto crecer; a todos ellos les quiero agradecer por transmitirme los conocimientos por los que hoy estoy aquí; sin ustedes los conceptos serían solo palabras, y a las palabras, se las lleva el viento.

INDICE

- Portada: pg.1
- Resumen: pg. 3-4
- Glosario: pg. 5
- Antecedentes: pg. 5-14
- Objetivos: pg. 15
- Planteamiento del problema: pg. 15
- Justificacion: pg. 15
- Hipotesis: pg. 16
- Material y metodos: pg. 16
- Criterios de inclusión y exclusión: pg. 17
- Variables: pg. 18-19
- Técnicas y procedimientos: pg. 19-22
- Recursos humanos y financieros: pg. 22
- Cronograma de actividades: pg. 23
- Aspectos eticos: pg. 24
- Bibliografía: pg. 25-26
- Resultados pg.
- Anexos: pg. 27-29

RESUMEN

Titulo. Eficacia clínica del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos (ADSC) para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP.

Autores. Arturo García Galicia, Carlos Alberto Bernal Lopez, Saida Anyul Abud Flores.

Antecedentes. La fístula anal se clasifica en cuatro tipos: transesfinteriana, interesfinteriana, extraesfinteriana y supraesfinteriana. La fistulectomía extirpa todo el trayecto fistuloso, siendo radical y reduciendo el riesgo de recurrencia, aunque aumenta la probabilidad de incontinencia. En cambio, la fistulotomía aborda solo una porción del trayecto. Existen factores como isquemia, cuerpos extraños, infección y contaminación que afectan el proceso de cicatrización en estos casos. El tejido adiposo subcutáneo humano tiene células madre derivadas (ADSC), pluripotentes, diferenciables en varios tipos celulares. Las ADSC son antiinflamatorias, promueven neoangiogénesis, secretan factores de crecimiento y se diferencian en varios tipos celulares, aunque su mecanismo de acción en la cicatrización no se comprende completamente.

Objetivos específicos. Evaluar la eficacia clínica de la dermoinyección de ADSC para el cierre de fistulas perianales complejas refractarias.

Material y metodos. Estudio clinico comparativo casos y controles. La investigación se iniciará en el servicio de Cirugía General del Hospital de especialidades Puebla A partir del de la fecha de autorización hasta el agosto del 2023. El investigador principal realizará el seguimiento de la evolución ambulatoria de cada paciente, realizando los cuidados de la fistula. Se hará un registro fotográfico de la fistula en cada consulta de seguimiento. Los pacientes llevaran su seguimiento hasta la resolución total de la fistula perianal.

Resultados: Incluimos a un total de cinco pacientes con fístulas perianales refractarias complejas que se trataron con dermoinyección de ADSC. La mediana de edad fue de 42 años y eran del sexo masculino. La mediana de tiempo de evolución de las fístulas fue de 3 meses (rango, 2-8). La efectividad del tratamiento con ADSC fue del 100%. La mediana de tiempo para el cierre de la fístula fue de 20 días (11-24). No se presentó ninguna complicación.

Recursos e infraestructura. Material de liposuccion y nano convertidor obtenido por medicos investigadores. Recurso material del IMSS, jeringas de 20 ml, lidocaina simple al 2% y solucion salina al .9%.

Experiencia del grupo: Arturo García Galicia, Pediatra, Mtro. en Ciencias Médicas e Investigación, Jefe de Div. de Inv. en Salud, asesor de múltiples tesis de variadas especialidades. Carlos Alberto Bernal Lopez, cirujano coloproctólogo. Saida Anyul Abud Flores, residente de cirugía.

GLOSARIO

- EGF: factor de crecimiento epidérmico
- TGF - β: factor de crecimiento transformante β
- FGF: factor de crecimiento de fibroblastos
- VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular
- PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas
- MSC: células madre mesenquimatosas
- ADSC Celulas estromales derivadas de adipocitos
- ATP: edenosis trifosfato.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes generales

El absceso y la fístula anal son dos fases del mismo padecimiento, el primero en fase aguda o inicial y la segunda en fase crónica o secuela. La fístula es el conducto de paredes fibrosas infectadas, que comunica una cripta anal con la piel o con la luz del recto ; el orificio localizado en la cripta se denomina primario o interno y el cutáneo mucoso o secundario. El orificio primario es donde habitualmente se origina el proceso.

La prevalencia de fístulas perianales es del 0.01% Afecta principalmente a población joven. La relación Hombre: Mujer es de 2:1 Cursa con clínica de secreciónserosa o purulenta y dolor local. La recurrencia es del 25% La etiología puede ser debida a: Hipótesis criptoglandular (infecciosa). Enfermedad de Crohn. Traumatismos. Tumores. (1)

La fístula anal se clasifica en transesfinteriana, interesfinteriana , extraesfinteriana y supra esfinteriana.) (2)

Produce mínimas molestias; se manifiesta por secreción purulenta persistente y escasa , que procede de una elevación cutánea del tejido inflamatorio (orificio secundario), a veces dolorosa al tacto, que puede ser única o múltiple, situado en cualquiera de los dos cuadrantes perianales, con mayor frecuencia en los posteriores a distancias variables del ano , algunas tan lejanas como 12 a 13 cm y aun más . Aproximadamente en la mitad de los casos se encuentra un aumento en el volumen e hiperpigmentaciòn de la piel en la región que rodea el orificio fistuloso, que traducen la presencia de un absceso que no fue totalmente vaciado. En conjunto el absceso y la fístula siguen una de las siguientes evoluciones

Fase aguda (abscesos), gangrena de Fournier, sepsis grave y muerte. Destrucción del esfínter e incontinencia anal. Cambios neoplásicos malignos en fístulas de larga evolución. Complicación post- quirúrgica: incontinencia anal en cirujanos de poca experiencia.

Tratar el absceso y la fístula en la misma intervención. Fistulectomìa/ fistulotomìa. La fistulectomia reseca la totalidad del trayecto fistuloso por lo que es más radical y disminuye la recidiva mayor riesgo de incontinencia; la fistulotomia solo una porción del trayecto. La incontinencia esfinteriana por fistulectomìa es posible en fístulas muy altas que requieren división del anillo rectoanal. (2,3)

Antecedentes especificos

Existen factores que alteran el proceso de fibroplasia en la cicatrización de una herida en el periodo de inflamación, inhibiendo o retrasando su aparición, o alargando el proceso , entre ellos se identifican los siguientes: isquemia del tejido, contacto con cuerpos extraños, infección, y contaminación. (5)

Los factores sistémicos que afectan los procesos de la cicatrización incluyen: enfermedades cardiacas y enfermedades respiratorias que afectan la perfusión sistémica, y enfermedades metabólicas, vasculares, y neuropáticas; como por ejemplo en los pacientes con pie diabético. Otros factores son: la edad de más de 65 años, mala nutrición, terapias agresivas con esteroides, antimetabólicos, citotóxicos, radiación, y pacientes con sepsis o falla orgánica múltiple. Todos estos factores sistémicos son reflejo de alteraciones de un adecuado intercambio gaseoso, de la calidad del endotelio en su función, la respuesta celular y sus vías de señalización, respuesta inmune, etc.(5)

El tejido adiposo subcutáneo humano contiene células madre derivadas de tejido adiposo (ADSC), que son una población de células mesenquimales pluripotentes y poseen la capacidad de diferenciarse en varios linajes.(14). Las ADSC son de origen mesodérmico, también se pueden diferenciar en las condiciones adecuadas en células de origen ectodérmico o endodérmico. (15,16)

Poseen efectos antiinflamatorios y neoangiogénicos, secretan numerosos factores de crecimiento y pueden diferenciarse en varios tipos de células. Se sabe que muchos de estos están implicados en la compleja cicatrización de heridas, aunque todavía no se comprenden completamente las capacidades exactas y los mecanismos de acción de las células madre en la cicatrización de heridas. ADSC atenúan la respuesta inflamatoria general y, en segundo lugar, se transforman en células implicadas en la cicatrización de heridas como fibroblastos, miofibroblastos, células presentadoras de antígenos, células progenitoras endoteliales, etc.(7,17)

Las ADSC y sus factores secretores pueden alcanzar la epidermis en el caso de daño cutáneo al acelerar la cicatrización de las heridas de la epidermis.(21,23,24)

ANTECEDENTES GENERALES

El absceso y la fístula anal son dos fases del mismo padecimiento, el primero en fase aguda o inicial y la segunda en fase crónica o secuela. La fístula es el conducto de paredes fibrosas infectadas, que comunica una cripta anal con la piel o con la luz del recto ; el orificio localizado en la cripta se denomina primario o interno y el cutáneo mucoso o secundario. El orificio primario es donde habitualmente se origina el proceso.

La prevalencia de fístulas perianales es del 0.01% Afecta principalmente a población joven. La relación Hombre: Mujer es de 2:1 Cursa con clínica de secreciónserosa o purulenta y dolor local. La recurrencia es del 25% La etiología puede ser debida a: Hipótesis criptoglandular (infecciosa). Enfermedad de Crohn. Traumatismos. Tumores. (1)

CLASIFICACIÓN

La fístula anal se clasifica en transesfinteriana, interesfinteriana , extraesfinteriana y supra esfinteriana.) (2)

CUADRO CLÍNICO

Produce mínimas molestias; se manifiesta por secreción purulenta persistente y escasa , que procede de una elevación cutánea del tejido inflamatorio (orificio secundario), a veces dolorosa al tacto, que puede ser única o múltiple, situado en cualquiera de los dos cuadrantes perianales , con mayor frecuencia en los posteriores a distancias variables del ano , algunas tan lejanas como 12 a 13 cm y aun más . Aproximadamente en la mitad de los casos se encuentra un aumento en el volumen e hiperpigmentaciòn de la piel en la región que rodea el orificio fistuloso, que traducen la presencia de un absceso que no fue totalmente vaciado. En conjunto el absceso y la fístula siguen una de las siguientes evoluciones

A) Cuando el absceso drena ya sea espontáneamente o quirúrgicamente, supura cuatro a cinco días se ocluye el orificio y el padecimiento aparentemente se cura; en un tiempo variable de semanas a meses y aun años, el absceso reincide vuelve a vaciarse y desaparece nuevamente; esto puede suceder innumerables veces.

B) El orificio fistuloso una vez desaparecido el absceso continúa supurando durante semanas o meses, al cabo de los cuales se ocluye; después de una temporada variable asintomático el absceso se vuelve a formar.

C) L a fístula persiste supurando constante y escasamente, por el tiempo indefinido sin formación de abscesos.

D) La fístula supura constantemente se cierra por dos a tres días y se inicia la formación de un nuevo absceso y así sucesivamente. (3)

DIAGNÒSTICO DIFERENCIAL

- Tuberculosis: La fístula coexiste con el padecimiento pulmonar, pero un paciente tuberculoso puede tener una fístula criptoglandular.
- Linfogranuloma venéreo: Debe sospecharse en orificios fistulosos múltiples, signos de infección subcutánea severa, irregularidad de la mucosa rectal al tacto y el típico estrechamiento del recto situado unos 4 a 6 cm. del ano.
- Colitis ulcerosa inespecífica puede ser una de sus complicaciones.
- Quiste pilonidal: Orificio en la línea media sacrococcigea constituido por pelos a través del orificio.
- Hidradenitis supurativa o Hypoderma: infección de las glándulas sudorípara se inicia con nódulos subcutáneos que se reblandecen y supuran y se extienden a otras glándulas y forman trayectos subcutáneos fistulosos que comunican al exterior. Pueden abarcar ambas regiones glúteas sacrococcigea e inguinales con zonas hiperpigmentadas brillantes de aspecto inflamatorio.

- Actinomicosis: Enfermedad rara con numerosos orificios fistulosos supurantes con signos de infección subcutánea severa y extensa. Ataque severo al estado general. El tratamiento con antibióticos representa el elemento diferencial importante.
- Furunculosis y quistes sebáceos infectados: Es un forúnculo similar a un absceso. El quiste evacua supura y evacúa su contenido intermitentemente. Rara vez fistulizan.
- Cuerpos extraños: Sustancias anestésicas pueden producir abscesos. Divertículos de sigmoides: Casos severos fistulización.
- Laceraciones obstétricas: Cicatrización defectuosa de desgarro perianal o episiotomía pueden dejar fístulas.
- Osteomielitis de huesos pélvicos. Algunos fistulizan a región anal y perianal.

COMPLICACIONES

Fase aguda (abscesos), gangrena de Fournier, sepsis grave y muerte. Destrucción del esfínter e incontinencia anal. Cambios neoplásicos malignos en fístulas de larga evolución. Complicación post- quirúrgica: incontinencia anal en cirujanos de poca experiencia.

TRATAMIENTO

Tratar el absceso y la fístula en la misma intervención. Fistulectomìa/ fistulotomìa. La fistulectomia reseca la totalidad del trayecto fìstuloso por lo que es más radical y disminuye la recidiva mayor riesgo de incontinencia; la fistulotomia solo una porción del trayecto. La incontinencia esfinteriana por fistulectomìa es posible en fístulas muy altas que requieren división del anillo rectoanal. (2,3)

FASES DE LA CICATRIZACIÓN

La cicatrización de las heridas comprende conocer tres fases interpuestas: inflamación, proliferación y maduración, generada por una serie de reacciones e interacciones de células y “mediadores”. El primer paso de la cicatrización es la inflamación de la herida en la que participan en un principio los factores de crecimiento plaquetarios, que tienen señalización hacia neutrófilos con mayor importancia los macrófagos.(4) (5)

Generalmente después del quinto día las células que migran dependen de la señalización de macrófagos para que esencialmente puedan llegar fibroblastos para el depósito de matriz de tejido conectivo, con la proliferación principalmente de colágeno. (6)

En la segunda fase de la cicatrización de las heridas la proliferación o fibroplasia es caracterizada por el aumento del número de fibroblastos y el depósito de colágeno para remplazar la matriz de fibrina provisional y proveer de matriz extracelular en el sitio de la herida. La nueva matriz consiste en colágena, proteoglicanos,

glucosaminoglucanos y fibronectina, por lo que ocurre la formación del tejido de granulación o la epitelización, ésta producción está regulada principalmente por PDGF y TGF--β. (5)

El tejido de granulación consiste en una densa red de vasos sanguíneos y capilares, con elevación de la densidad celular de fibroblastos y macrófagos, con fibras de colágena organizadas en forma aleatoria. El ritmo metabólico es más alto comparado con el tejido de la dermis normal, que refleja la importancia de la migración celular, división, y síntesis de proteínas, siendo indispensable una adecuada nutrición, flujo sanguíneo y oxigenación de la herida. (5)

La colágena provee de fuerza tensil, organización e integridad al tejido conectivo, y juega un papel importante en la hemostasia al interactuar con las plaquetas. Con una producción pico de colágena entre el día 7 al 14. (5)

El desarrollo de nuevos vasos requiere de la proliferación y migración de células endoteliales. La angiogénesis es el proceso de la generación de nuevos vasos sanguíneos de vasos pre-existentes, con la función de proveer oxígeno y nutrientes al área lesionada. Esto incluye señales que estimulen numerosos factores, como FGF, VEGF, y TGF- β, también participan los factores de antiangiogenesis, como la angiostatina, endostatina, y trombospondin. Los factores locales que estimulan la angiogénesis son una baja tensión de oxígeno, pH bajo, y altos niveles de lactato. (4)

FACTORES LOCALES QUE AFECTAN A LA CICATRIZACIÓN.

Existen factores que alteran el proceso de fibroplasia en la cicatrización de una herida en el periodo de inflamación, inhibiendo o retrasando su aparición, o alargando el proceso , entre ellos se identifican los siguientes: isquemia del tejido, contacto con cuerpos extraños, infección, y contaminación. (5)

ISQUEMIA.

En los procesos normales la fase proliferativa de la cicatrización es caracterizada por un incremento en el metabolismo y síntesis de proteínas, requiriendo activamente de la fosforilación oxidativa de la ATP, teniendo un incremento en la demanda de flujo sanguíneo para proveer de glucosa y oxígeno. La respuesta fisiológica del endotelio vascular está situada en la fase más temprana de la cicatrización con el estímulo de la hipoxia, precipitando la vasodilatación, estimulando depósitos de fibrina, e incrementando la actividad proinflamatoria de las células, aumentando la fuga capilar, e incrementando la neovascularización, por lo que en situaciones de isquemia, la disminución de la irrigación por diversos factores puede afectar la actividad de leucocitos, disminuyendo su concentración, y en los periodos largos de hipoxia no participan los fibroblastos para la formación de matriz extracelular, retrasando la cicatrización.(5)

INFECCIÓN.

La presencia de más de 10^5 organismos por gramo de tejido de bacterias hace que se alargue la fase de inflamación, retrasando la actividad de los fibroblastos, miofibroblastos y la producción y depósito de colágena. Las endotoxinas por sí mismo estimulan la fagocitosis en respuesta al depósito de colágena, contribuyendo a su degradación y destrucción celular. La contaminación de la herida está relacionada con la presencia de hipoxia, que potencialmente suprime la llegada de macrófagos y fibroblastos. (5)

CUERPOS EXTRAÑOS

Los cuerpos extraños que también incluye el tejido no viable, son físicamente un obstáculo para la migración celular y señalización, así como un medio de cultivo para la proliferación de bacterias. Los cuerpos extraños promueven la fase de inflamación, es por eso se debe de realizar la desbridación de la herida de tejido necrótico para promover la cicatrización. (5)

EDEMA/ ELEVACIÓN DE LA PRESIÓN TISULAR

El edema y el aumento de la presión local de los tejidos están asociado a lesión isquémica del tejido, comprometiendo la perfusión tisular. El aumento de la presión, puede ser externa o interna (síndrome compartamental), induciendo el cierre de los capilares a través del aumento crítico de la presión. (5)

FACTORES SISTÉMICOS QUE AFECTAN A LA CICATRIZACIÓN.

Los factores sistémicos que afectan los procesos de la cicatrización incluyen: enfermedades cardiacas y enfermedades respiratorias que afectan la perfusión sistémica, y enfermedades metabólicas, vasculares, y neuropáticas; como por ejemplo en los pacientes con pie diabético. Otros factores son: la edad de más de 65 años, mala nutrición, terapias agresivas con esteroides, antimetabólicos, citotóxicos, radiación, y pacientes con sepsis o falla orgánica múltiple. Todos estos factores sistémicos son reflejo de alteraciones de un adecuado intercambio gaseoso, de la calidad del endotelio en su función, la respuesta celular y sus vías de señalización, respuesta inmune, etc.(5)

DIABETES MELLITUS

El incremento de la glucosa sérica es uno de los mayores factores por los cuales no ocurre la cicatrización de una herida. Anteriormente se pensaba que el problema de la cicatrización en pacientes diabéticos ocurría por complicaciones de oclusiones microvasculares, siendo una hipótesis que no se ha podido comprobar. En las heridas animales de experimentación con diabetes se observa una disminución del tejido de granulación, y defectos en la maduración de la colágena.(5)

EDAD

Estudios sugieren que los defectos en la cicatrización de heridas en pacientes mayores de 65 años están relacionado con los procesos más tempranos de la cicatrización por la presencia insuficiente de los factores de crecimiento, menor recambio celular, así como el envejecimiento del endotelio, promoviendo una repuesta de migración celular deficiente. (5)

NUTRICIÓN

La desnutrición se asocia con una disminución del depósito de colágena en las heridas. La deficiencia de vitamina C se asocia en mayor medida a una deficiencia en el depósito de colágena de calidad, por el papel bioquímico que juega en la cascada de producción de colágena, directamente sobre la hidroxilación de la misma para llegar a su producto final como colágena. (Broughton G, The basic science of wound healing, 2006)

ETIOLOGIA Y FISIOPATOLOGIA DE CICATRIZACION

Una herida curada se caracteriza por la reepitelización asociada con dos funciones básicas de proliferación y migración de queratinocitos. Varios factores de crecimiento, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento transformante β (TGF - β), el factor de crecimiento de fibroblastos y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), se utilizan para estimular la proliferación, diferenciación y migración celular. Las células madre mesenquimatosas(7) (MSC) son un tipo de células madre multipotentes con capacidad de diferenciación y las células madre más utilizadas en el campo de la medicina regenerativa debido a su papel esencial en el aumento de la capacidad regenerativa de muchos tejidos. (8)

Las células madre / estromales mesenquimales (MSC) representan una población celular heterogénea que puede aislarse del compartimento estromal de numerosos tipos de tejidos, incluida la médula ósea (BM-MSC), el tejido adiposo (ADSC) y el cordón umbilical. Jalea de Wharton (UC-MSC). Las MSC son candidatos prometedores para aplicaciones de terapia celular regenerativa debido a su potencial de diferenciación multilinaje, su capacidad para modular el estrés oxidativo y su secreción de varios mediadores solubles con efectos tróficos e inmunomoduladores beneficiosos(9)(10)

Los factores de crecimiento son una subclase biológica que tienen como función en la división, diferenciación, migración, o expresión celular de genes, teniendo acciones muy potentes pero con una vida media muy corta. Las investigaciones en ingeniería tisular se han centrado en tres factores de crecimiento: el factor de crecimiento epitelial (EGF), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Desafortunadamente, las aplicaciones biológicas con este tipo de tratamientos son difíciles de obtener por sus altos costos, y la manipulación es compleja, limitando sus expectativas comerciales para la aplicación clínica.(11)(12)

ANTECEDENTES ESPECIFICOS

CELULAS ESTROMALES DERIVADAS DE ADIPOCITOS

La recolección de tejido adiposo, con mayor frecuencia durante la liposucción, es segura y fácil, y el aislamiento de las células de las muestras recolectadas es altamente eficiente. (13)El tejido adiposo subcutáneo humano contiene células madre derivadas de tejido adiposo (ADSC), que son una población de células mesenquimales pluripotentes y poseen la capacidad de diferenciarse en varios linajes.(14). Las ADSC son de origen mesodérmico, también se pueden diferenciar en las condiciones adecuadas en células de origen ectodérmico o endodérmico. (15,16)

Poseen efectos antiinflamatorios y neoangiogénicos, secretan numerosos factores de crecimiento y pueden diferenciarse en varios tipos de células. Se sabe que muchos de estos están implicados en la compleja cicatrización de heridas, aunque todavía no se comprenden completamente las capacidades exactas y los mecanismos de acción de las células madre en la cicatrización de heridas. ADSC atenúan la respuesta inflamatoria general y, en segundo lugar, se transforman en células implicadas en la cicatrización de heridas como fibroblastos, miofibroblastos, células presentadoras de antígenos, células progenitoras endoteliales, etc.(7,17)

Los fibroblastos son las principales células efectoras de la cicatrización de heridas en la piel. Las células madre derivadas de tejido adiposo pueden diferenciarse en fibroblastos en determinadas condiciones. ADSC podrían ser inducidas desde la matriz extracelular adiposa para diferenciarse en fibroblastos a fin de promover la cicatrización de heridas cutáneas. (18)

Las ADSC secretan una diversidad de factores paracrinos y pueden diferenciarse en varios linajes. Los factores paracrinos secretados por estas células son interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1) y VEGF estas. Las ADSC no se ven afectadas negativamente por la hipoxia en términos de proliferación. La hipoxia también es un desencadenante inicial del factor de crecimiento endotelial vascular proangiogénico (VEGF) (14,19,20)

Los macrófagos M2 están involucrados en la inhibición de la respuesta inflamatoria, ya que inician los procesos de reparación tisular. Secretan y liberan muchos factores proangiogénicos. Los macrófagos M2 participan en la inhibición de la respuesta inflamatoria e inician procesos de reparación del tejido muscular dañado. El número de capilares esl más alto el día 14 para luego disminuir el día 21 al nivel del día 7.(14,21)

Las ADSC reducen significativamente el tamaño de la herida y aceleraran la reepitelización desde el borde. (22)

Las ADSC están ubicadas fisiológicamente debajo de los fibroblastos dérmicos y pueden interactuar con ellos. Sin embargo, las ADSC y sus factores secretores pueden alcanzar la epidermis en el caso de daño cutáneo al acelerar la cicatrización de las heridas de la epidermis.(21,23,24)

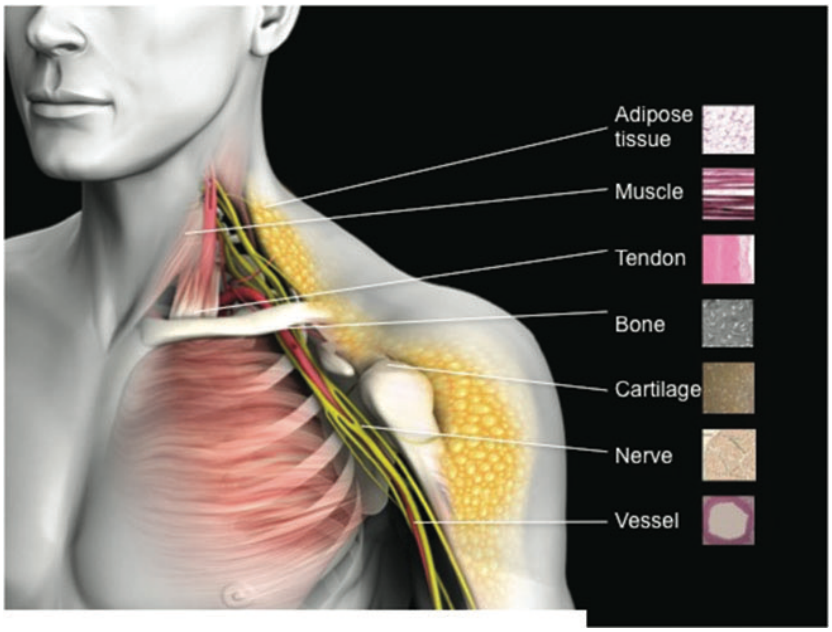


Figure 3 Adipose-derived stem cells (ADSCs) have the potential to differentiate along several lineages and into adipocytes, chondrocytes, osteoblasts, neurons, Schwann cells, vascular endothelial cells and tenogenic cells among other cell and tissue types. (Naderi N, 2016)

ADSC EN FISTULAS POR ENFERMEDAD DE CROHN

La enfermedad de Crohn es una enfermedad inflamatoria intestinal mediada inmunológicamente; con una incidencia de 4,0–7,0, 7,1 y 1,34 por 100 000 personas en Europa, EE. UU. y Corea, respectivamente.(25)

La etiología de la enfermedad de Crohn sigue siendo desconocida. Se cree que es causado por una disfunción de las células T de la mucosa, lo que finalmente conduce a una inflamación crónica y daño del intestino. La inflamación crónica no controlada finalmente provoca diversas complicaciones en el intestino, como obstrucción intestinal, fístulas, abscesos y fisuras anales. (25)

Woo yong et al en el 2013 en su protocolo mostraron una curación completa de la fístula en 27/33 pacientes (82 %) a las 8 semanas después de la inyección de ASC. De 27 pacientes con curación de fístula, 26 pacientes completaron un estudio de observación adicional durante 1 año y 23 pacientes (88 %) mantuvieron el cierre completo. No hubo eventos adversos relacionados con la administración de ASDC. El tratamiento con ADSC para pacientes con fístula de Crohn fue bien tolerado, con un resultado terapéutico favorable. Además, el cierre completo fue sostenido. Estos

resultados sugieren fuertemente que el ADSC autólogo podría ser una nueva opción de tratamiento para la fístula de Crohn con bajo riesgo de recurrencia.(26)

Se han estudiado células madre derivadas de tejido adiposo (ASC) autólogas o alogénicas para el tratamiento de la enfermedad de Crohn y otros trastornos. (27)De particular relevancia para este estudio, las ASC podrían considerarse herramientas terapéuticas seguras y eficaces para el tratamiento de la fístula de Crohn.(28) Es importante destacar que las ADSC no causan incontinencia fecal después de la inyección en el sitio de la lesión en pacientes con enfermedad de Crohn y fístulas rectovaginales(27). Como tal, a los ADSC se les ha otorgado la designación de ¨medicamento huérfano¨ en Europa para el tratamiento de fístulas complejas, incluida la fístula de Crohn. Se observó una cicatrización significativa en el 71% de los sujetos en un estudio clínico de pacientes con fístulas complejas.(29)

OTROS USOS PARA ADSC

Las ADSC tienen un efecto positivo sobre la remodelación cardíaca con una disminución del cambio fibrótico y la hipertrofia cardíaca en los meses posteriores al infarto de miocardio. La administración local de ADSC en el sitio de la lesión parece acelerar la reparación del tendón, con un aumento significativo en la resistencia a la tracción, la diferenciación directa de las ADSC hacia los tenocitos y las células endoteliales y el aumento de los factores de crecimiento angiogénicos. ADSC en los trayectos nerviosos mejoran la regeneración neuronal; similar al autoinjerto, al ofrecer un entorno más parecido a un nervio liberando factores neurotróficos. Las ADSC han demostrado la producción exitosa de cartílago en estudios in vivo. (15)
Existen estudios escasos sobre su utilidad en fistulas enterales, disfuncion erectil, infartos al miocardio, entre otros.

OBJETIVOS:

Objetivos específicos

- Evaluar la Eficacia clínica con la dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP

Objetivos secundarios.

- Describir la mediana de tiempo para el cierre de las fístulas.
- Describir a la población incluida en el estudio.

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Se ha considerado al tejido adiposo como de almacenamiento energético y como un órgano endocrino; sin embargo, en las últimas décadas se lo ha considerado como una fuente abundante de células mesenquimales.

Las células madre derivadas del tejido adiposo son de fácil obtención, presentan una gran capacidad de expansión *ex vivo* y gran plasticidad a otros tipos celulares, liberan gran variedad de factores angiogénicos y presentan propiedades inmunomoduladoras. Estas células son abundantes en el tejido adiposo, son fácilmente obtenibles y tienen un alto potencial de diferenciación en linajes celulares especializados que incluyen adipocitos, osteocitos, condrocitos, miocitos, cardiomiocitos, tenocito, células endoteliales y neuronas. Por ello, actualmente constituyen un foco de gran interés en la medicina regenerativa.

Se ha determinado que existe una concentración de hasta 40 veces más de células madre en una muestra de grasa que en una de médula ósea, lo que le da ventajas para su aislamiento y manipulación a gran escala,

Las celulas madre obtenidad de los adipocitos se han empleado inicialmente para estimular la reparación ósea en defectos importantes de cráneo y en la curación de fístulas crónicas en pacientes con enfermedad de Crohn (este último fue un estudio clínico en fase I en pacientes con fístulas que no respondían a tratamientos médicos. La curación completa se logró en el 75% de los casos)

El tratamiento con células madre podría ser una nueva opción de tratamiento para estos pacientes con fistulas complejas que ya agotaron tratamientos sin resolucion de su patologia. Las ADSC también pueden mostrar un potencial pluripotente y dar lugar a linajes de células endodérmicas y ectodérmicas; pueden representar una modalidad de tratamiento eficaz y segura para las fistulas que no cicatrizan

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la eficacia clínica y en calidad de vida del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP?

JUSTIFICACIÓN

El tratamiento con células madre podría ser una nueva opción de tratamiento para estos pacientes con fistulas complejas que ya agotaron tratamientos sin resolucion de su patologia. Las células madre tienen el potencial de diferenciarse en numerosos tipos de células. La terapia con células madre ha demostrado un gran potencial en el tratamiento de una variedad de afecciones diferentes, como trastornos ortopédicos, enfermedades inflamatorias, insuficiencia hepática y trastornos autoinmunes.(7) El tejido adiposo es una excelente fuente de ADSC autólogas.

Estas celulas adiposas obtenidas contienen aproximadamente 40 veces más células madre que la médula ósea. Liposucción del abdomen o de la parte interna del muslo realizada bajo anestesia local o general es suficiente para recolectar la cantidad requerida de ADSC sin ningún riesgo significativo de complicaciones. Las ADSC pueden estar recién aisladas o cultivadas. Estas celulas exhiben un excelente potencial para la cicatrización de heridas, ya que demuestran una secreción paracrina, efectos inmunomoduladores y capacidad para diferenciarse en fibroblastos y células endoteliales, que promueven la angiogénesis y regeneración de tejidos.(30)

Las ADSC también pueden mostrar un potencial pluripotente y dar lugar a linajes de células endodérmicas y ectodérmicas; pueden representar una modalidad de tratamiento eficaz y segura para las fistulas que no cicatrizan.(9)

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Es mayor la eficacia clínica y la calidad de vida en los pacientes sometidos al tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP

HIPOTESIS NULA

Es mayor la eficacia clínica y la calidad de vida en los pacientes sometidos al tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio clínico comparativo casos y controles. La investigación se iniciará en el servicio de Cirugía General del Hospital de especialidades Puebla A partir del de la fecha de autorización hasta el agosto del 2023.El investigador principal realizará el seguimiento de la evolución ambulatoria de cada paciente, realizando los cuidados de la fistula. Se hará un registro fotográfico de la fistula en cada consulta de seguimiento.Los pacientes llevaran su seguimiento hasta la resolución total de la fistula perianal.El investigador principal realizará el seguimiento de la evolución hospitalaria de cada paciente. Se aplicará el tratamiento con dermoinyección con ADSC. El análisis macroscópico se hará por un medico capacitado ademas de la escala visual analoga por el paciente.

CÁLCULO MUESTRAL

- No se cuentan con estudios previos en el tema de fistulas complejas por lo que no se puede establecer una N.

RECURSOS MATERIALES Y FINANCIAMIENTO

- Material de liposuccion y nano convertidor obtenido por medicos investigadores. Recurso material del IMSS, jeringas de 20 ml , lidocaina simple al 2% y solucion salina al .9%.

UNIVERSO DEL ESTUDIO

Criterios de inclusión

- Pacientes de ambos sexos mayores de 18 años.
- Pacientes con diagnóstico de fistula perianal multitratada sin éxito.
- Pacientes sin antecedente de fascitis o infeccion de tejido blando perianal
- Pacientes sin enfermedad neuropatica (paraplejia, cuadriplegia, incontinencia, sindrome de cauda equina)
- Paciente sin celulitis
- Pacientes sin factores de riesgo para afectar los procesos de cicatrización: pacientes mayores de 65 años de edad, enfermedades de la colágena, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, desnutrición, anemia, insuficiencia renal, y neoplasias.
- Pacientes sin problemas protrombóticos
- Pacientes sin tratamiento anticoagulante (oral, intravenoso o subcutaneo)
- Pacientes que no hayan recibido con anterioridad algún tratamiento para mejorar el proceso de cicatrización.
- Pscientes que no padezcan enfermedades que incluyen el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis C y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana; tuberculosis activa (incluida la tuberculosis anal).

- Pacientes sin septicemia
- Pacientes que no hayan recibido infliximab en los 3 meses anteriores al tratamiento con ADSC
- Pacientes sin alergias o hipersensibilidad a los materiales usados en la aplicación de ADSC
- Pacientes con adecuado nivel de tejido graso.
- Que firmen hoja de consentimiento informado.

Criterios de exclusión
- Pacientes que soliciten su alta voluntaria.
- Pacientes que no acudan a las citas de seguimiento.

Criterios de eliminación
- Pacientes quienes fallen al 10% de las citas programadas.
- Pacientes que decidan ya no participar en el estudio.

VARIABLES Y ESCALA DE MEDICION

Variable Independiente

Tratamiento
- ADSC
  Escala de medición: Dicotómica.

Variable dependiente
- Resolución de la fistula (que tipo de fistula de que caracteristicas)

Escala de medición: Continua.

- Mejora macroscópica del tejido de granulación

Escala de medición: continua.

Posibles variables confusoras.

- **Edad:** Número de años cumplidos. **Escala de medición:** Continua.
- **Sexo:** Es el conjunto de características biológicas (anatómicas y fisiológicas) que distinguen a los seres humanos en dos grupos: femenino y masculino. **Escala de medición:** Dicotómica
- **Tamaño del orificio primario de la fistula**
- **Escala de medición:** Continua.

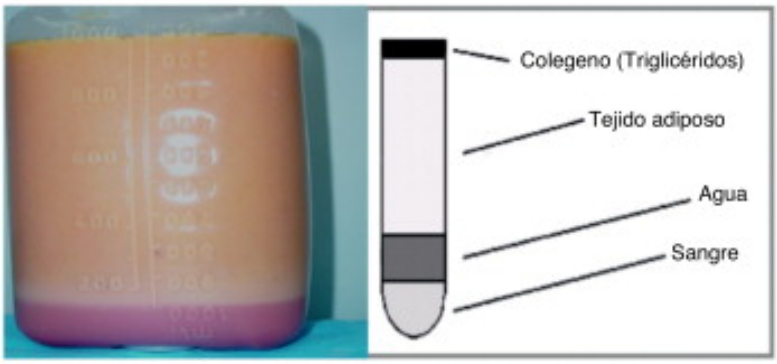
Control de variables potencialmente confusoras:
- Edad y Sexo, los pacientes son su propio control
- Tamaño de la fistula y su extension.
- Presencia de enfermedad infecciosa sobreagregada. Mediante exclusión.

Eventos adversos.

→ DEFINICION DE FISTULA CURADA: Cierre complete del orificio externo sin signos de drenaje de liquido inflamatorio o purulento e inflamación.

TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS

METODO DE OBTENCION DE ADSC



Solucion de klein

1000 cc SSN
+
500-1000 mg lidocaína
+
1 mg epinefrina
+
10 cc Hco3Na

Usando técnicas de liposucción tumescente, 10 min después de la inyección de la solución `reàrada con lidocaina con epinefrina 10 ml y un ámpula de epinefrina 60 ml. se pueden obtener grandes volúmenes de lipoaspirado con una morbilidad mínima en el sitio donante.

La fracción estromal vascular bruta contiene aproximadamente un 30-40% de ADSC. Existen técnicas de aislamiento: centrifugación en gradiente de densidad, tratamiento con tapón de lisis de eritrocitos, disociación mecánica, clasificación de células por inmunomagnétismo, y clasificación de células activadas por fluorescencia asi como métodos para purificar las ADSC.

Para fines de este estudio se realizará a traves de un tapón de lisis de eritrocitos y por disociación mecánica. (9)

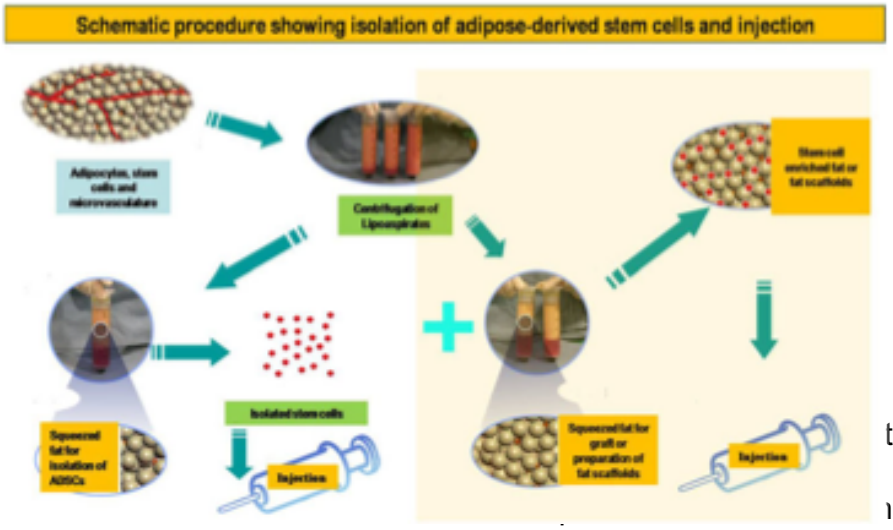
en partes según su densidad favoredidos por la

(Nano convertidor de grasa)

Utilizando el proceso antes mencionado, se dividirán 10 ml de grasa en los tres componentes siguientes después de dejarlos en reposo con la gravedad, desechando posyerior a su separacion la parte hematicoa y de solucion, convirtiendo a nanofat unicamente la porcion adiposa.

Este procedimiento de micronización es un proceso de condensación de tejido graso. El componente celular y estromal condensado se utilizará para inyección. Después del procedimiento de lavado, la suspensión que contiene las células madre derivadas de tejido adiposo, se convierte pasando 60 veces por cada uno de los tres pasadores de 2.4, 2.0 y 1.8 mm y una vez por el convertidor nanofat para inyección en la lesión a nivel subcutáneo y dermis asi como en toda el área perifistula.

La cantidad administrada sera de 15 ml de nanofat aproximadamente alrededor de la fistula y de su trayecto.



tal para predecir de local. Se inyectarán nterna y la pared del

trayecto de la fístula. El trayecto de la fístula abierta se llenará con una mezcla de ASDC.

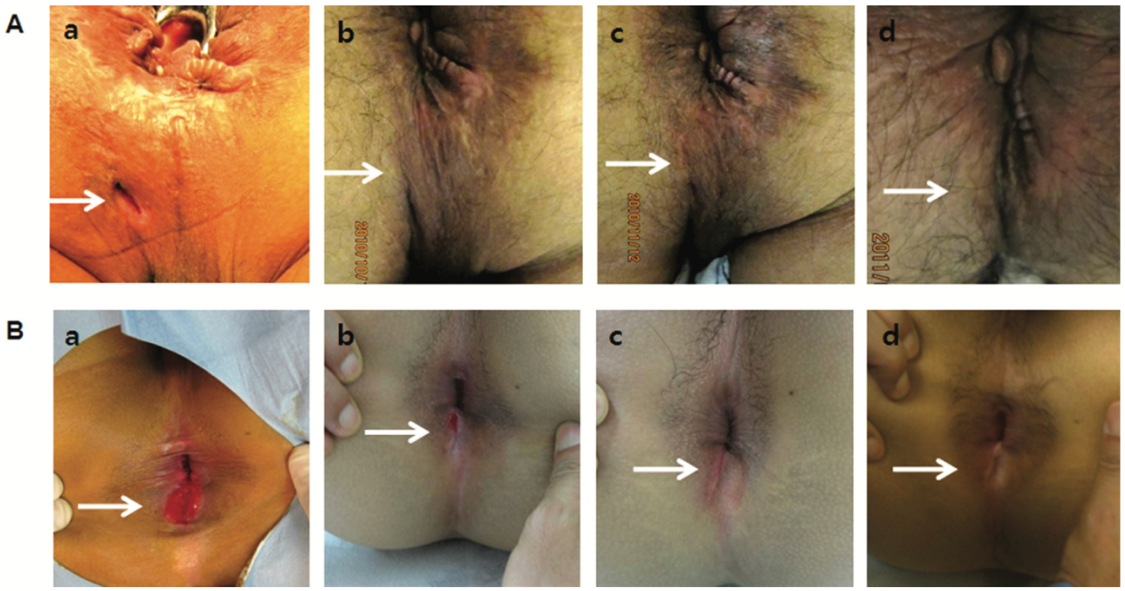
Se inyectarán aproximadamente 3 × 107 células por centímetro de longitud si el diámetro de la fístula no supera 1 cm y se administrará dos veces el numero de células cuando el diámetro de la fístula sea de > 2 cm. Si fuese necesaria una segunda inyección de ADSC, la dosis deberá contener 1,5 veces el número de células utilizadas en la primera inyección. Que se cumple con aproximadamente 10-15 ml de grasa convertida en nanograsa.

Evaluacion de curación de la fistula

Para evaluar la curación de la fístula, se tomarán fotografías digitales del sitio de la lesión en las semana 1,2,3,4… hasta el cierre de la misma y se compararán con las fotografías tomadas el día 1 (antes/después de la inyección de ASC).

La variable principal de eficacia de este estudio será la fracción de pacientes con cicatrización completa de la fístula a las 8 semanas después de la inyección final de ADSC. La cicatrización completa se definirá como el cierre completo del trayecto de la fístula y de las aberturas internas y externas, sin drenaje ni ningún signo de inflamación.

Los criterios de valoración secundarios de la eficacia serán la fracción de pacientes con una disminución del drenaje de más del 50 % y la satisfacción del investigador con la eficacia de ADSC según una escala de calificación de cinco puntos.



Pa
de
inyección demostrando epitelización completa de la fístula y del orificio externo. Flecha blanca orificio de la fístula y sitio de inyección.(26)

RECURSOS HUMANOS, MATERIALES Y FINANCIEROS

Material de liposuccion y nano convertidor obtenido por medicos investigadores. Recurso material del IMSS, jeringas de 20 ml , lidocaina con epinefrina, epinefrina y solucion salina al .9%.

ASPECTOS ÉTICOS

ESTUDIO CON RIESGO MAYOR AL MINIMO

El tratamiento y las maniobras diagnósticas que se utilizaron se consideran de riesgo menor por lo que por lo que no transgreden las normas de la declaración de Helsinki adoptada por la 18a Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y hasta la enmendada en la 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, Octubre 2013. A las Leyes y Códigos de México como el artículo 100 de la Ley General de Salud y el artículo 20 donde señala que se entiende por consentimiento bajo información el acuerdo por escrito mediante el cual el sujeto de investigación, o en su caso, su representante legal autoriza su participación en la investigación con pleno conocimiento de la naturaleza de los procedimientos y riesgos a los que se someterá, con capacidad de libre elección y sin coacción alguna.

A los pacientes que decididan colaborar en el estudio y que reunan los criterios de selección se les dará a conocer por escrito en que consiste su participación y se les pedirá que firmen la hoja de consentimiento informado, estando en completa libertad de abandonar el proyecto si así lo deciden, sin que esto determine una disminución de los cuidados de su atención médica. La información se manejará con estricta confidencialidad y la documentación fotográfica en caso de necesitarse para publicación será mantenida en anonimato. El consentimiento informado será entregado y explicado por la Dra. Saida Anyul Abud Flores.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Recolectaremos las variables en una base de datos de Excel. El análisis estadístico se realizará en el programa SPSS v. 25. Reportaremos las variables continuas con mediana y rango y las categóricas con frecuencia y porcentajes.

RESULTADOS

Incluimos a un total de cinco pacientes con fístulas perianales los cuáles fueron sometidos a ADSC. La mediana de edad fue de 42 años (rango, 33-51) y todos los pacientes eran del sexo masculino (5,100%). La mayoría de los pacientes tenían comorbilidades (3, 60%). La hipertensión arterial sistémica (2, 40%) fue la comorbilidad mas común y un paciente (40%) tenía antecedente de CUCI (1, 20%). La mayoría de los pacientes eran sedentarios (4, 80%) (Tabla 1). La mediana de tiempo de evolución de las fístulas antes de entrar al estudio fue de 3 meses (rango, 2-8). La mayoría de los pacientes (4, 80%) recibieron uno o más tratamientos para las fístulas perianales. Los tratamientos utilizados previamente a la inclusión al estudio fueron fistulotomía (3, 60%) antibioticoterapia (1, 20%) (Tabla 1). Un paciente (1, 20%) se había sometido a dos fistulotomías previo a su inclusión al estudio.

La efectividad del tratamiento con ADSC fue del 100%. La mediana de tiempo para el cierre de la fístula fue de 20 días (11-24) (Tabla 1). No se presentó ninguna complicación durante los procedimientos o durante el seguimiento. El tratamiento con ADSC fue inicialmente efectivo en el paciente número 4, sin embargo, después de 3 semanas el paciente presentó recurrencia por actividad de Crohn (Tabla 1).

DISCUSIÓN

En este estudio clínico comparativo de casos y controles, hemos demostrado que la ADSC es un tratamiento coadyuvante altamente eficaz para el cierre de fístulas perianales complejas refractarias. Logramos una tasa de éxito del 100% en el cierre de fístulas, con una mediana de tiempo para el cierre de 20 días y sin complicaciones observadas durante el procedimiento o el período de seguimiento. Estos resultados son particularmente significativos, dadas las limitaciones de los tratamientos convencionales y el impacto negativo que las fístulas perianales tienen en la calidad de vida de los pacientes.

Es crucial destacar que estos hallazgos podrían representar un avance significativo en el manejo de esta difícil condición clínica, sobre todo en pacientes con comorbilidades como hipertensión quienes conformaron una parte considerable de nuestra muestra. Aunque uno de los pacientes mostró recurrencia debido a la actividad de Crohn, la eficacia general de la terapia con ADSC indica que este tratamiento ofrece una opción segura y efectiva, y podría incorporarse como una nueva modalidad en el arsenal terapéutico para tratar fístulas perianales complejas.

El presente estudio sobre el uso de ADSC en fístulas perianales se alinea y complementa una variedad de investigaciones en campos relacionados, desde el tratamiento de fístulas anorrectales complejas hasta la cicatrización de úlceras crónicas y heridas cutáneas (31, 7, 8, 9, 10).

En el contexto de la literatura científica actual, nuestros resultados que muestran la eficacia y seguridad preliminar de las ADSC en el tratamiento de fístulas perianales complejas son consistentes con investigaciones previas en el campo de la medicina regenerativa (31). En particular, nuestro trabajo complementa los hallazgos del estudio que investigó el injerto autólogo de grasa en fístulas anorrectales, donde se observó que el 80.4% de los pacientes experimentaron mejoras en los síntomas y un 64.4% logró el cierre clínico de todos los trayectos fistulosos (31).

Adicionalmente, nuestros resultados encuentran respaldo en estudios que exploran el uso de ADSC en otros contextos médicos. Por ejemplo, un estudio sugiere que los ADSC son seguros y efectivos en la curación de úlceras crónicas, lo que coincide con nuestras observaciones sobre la eficacia y seguridad en el tratamiento de fístulas perianales (7). Otro estudio ofrece una visión integral de la utilidad terapéutica de los ADSC en aplicaciones de regeneración de tejidos, lo cual añade más peso a la relevancia de nuestro trabajo (9). Aunque nuestro estudio tiene limitaciones como el tamaño de la muestra y la incapacidad para realizar subanálisis, se suma al cuerpo creciente de evidencia que sugiere que los ADSC podrían ofrecer una estrategia de tratamiento eficaz y segura para condiciones crónicas y difíciles de tratar (10).

Nuestros resultados en el tratamiento de fístulas perianales mediante células madre derivadas del tejido adiposo (ADSC) también encuentran similitudes con investigaciones que abordan problemas de cicatrización de heridas. Un estudio examinó los efectos de los exosomas derivados de ADSC (ADSC-exos) en la cicatrización de heridas cutáneas, destacando su capacidad para promover la proliferación y migración celular y para inhibir la apoptosis celular (8). Aunque nuestro estudio no se enfocó en el mecanismo específico a través del cual los ADSC facilitan la curación, estos hallazgos sobre el papel de los exosomas podrían ofrecer una perspectiva adicional sobre cómo las ADSC podrían estar ejerciendo sus efectos beneficiosos en las fístulas perianales.

La comparación de nuestros resultados con los estudios previos subraya el potencial terapéutico de las ADSC en el tratamiento de fístulas perianales. Nuestro estudio, aunque con una muestra pequeña de cinco pacientes, mostró una tasa de éxito del 100% en la curación de fístulas perianales, con un tiempo medio de cierre de 20 días. No se registraron efectos adversos, aunque hubo un caso de recurrencia relacionado con la actividad de Crohn.

Estos resultados encuentran un fuerte apoyo en el estudio de fase II descrito previamente, que también mostró un alto grado de éxito en el tratamiento de fístulas asociadas con la enfermedad de Crohn utilizando ADSC (26). En su estudio, un 82% de los pacientes alcanzó el cierre completo de la fístula a las 8 semanas y este efecto fue sostenible en un 88% de los pacientes durante un seguimiento de un año (26). Específicamente, este estudio se centra en la capacidad de los ADSC para tratar las fístulas asociadas con la enfermedad de Crohn, lo cual es relevante para nuestro caso de recurrencia en el paciente con actividad de Crohn (26). La falta de eventos adversos en ambos estudios refuerza la seguridad del tratamiento con ADSC. Además, otros estudios respaldan nuestros hallazgos, mostrando tasas de éxito superiores cuando se utilizan ADSC en combinación con fibrina en comparación con el uso de fibrina sola para el tratamiento de fístulas perianales (29). En este estudio multicéntrico y controlado, la administración de ADSC resultó en tasas de curación significativamente más altas, y el tratamiento fue bien tolerado (29). Específicamente, el uso de ADSC en combinación con fibrina condujo a tasas de curación del 71%, mucho más altas que el 16% en el grupo que solo recibió fibrina (29).

Finalmente, otros autores han descrito de forma amplia la versatilidad y eficacia de los ADSC en la regeneración de varios tejidos (15). Este estudio resalta el rendimiento excepcional de ADSC en comparación con otras células madre como las células madre embrionarias y las células madre pluripotentes inducidas (iPSC), que se encuentran limitadas por consideraciones éticas y reglamentarias.

En resumen, nuestros resultados, aunque limitados por el tamaño de la muestra y la duración del seguimiento, son consistentes con estudios de fases más avanzadas en términos de eficacia y seguridad del uso de ADSC para tratar fístulas perianales, y contribuyen a un creciente cuerpo de evidencia que respalda la aplicabilidad de ADSC en el ámbito de la medicina regenerativa (15, 26, 29).

LIMITACIONES

Una de las limitaciones más notables de este estudio es el pequeño tamaño de la muestra, que incluyó solo cinco pacientes. Esta muestra reducida limita nuestra capacidad para realizar subanálisis que podrían haber proporcionado información más detallada sobre la eficacia de la terapia con ADSC en diferentes subgrupos de pacientes, como aquellos que han recibido previamente tratamientos con antibióticos o hubieramos registrado con mas precisión la tasa de complicaciones y recurrencia. Además, la escasez de datos hace que no sea posible generalizar nuestros resultados a la población más amplia de pacientes con fístulas perianales complejas refractarias.

Otra limitación es la falta de un análisis comparativo de la calidad de vida entre los pacientes tratados con ADSC y aquellos sometidos a tratamientos convencionales, como la fistulotomía. Un análisis de la calidad de vida podría ofrecer una visión más completa de las ventajas y desventajas de este nuevo enfoque terapéutico en relación con los métodos existentes. A pesar de estas limitaciones, nuestro estudio proporciona evidencia preliminar sobre la eficacia y seguridad del tratamiento coadyuvante con ADSC en pacientes con fístulas perianales, abriendo la puerta a investigaciones más amplias y rigurosas en el futuro.

CONCLUSIÓN

En conclusión, nuestro estudio demuestra que la ADSC es un método coadyuvante altamente eficaz para el tratamiento de fístulas perianales complejas refractarias. Con una tasa de éxito del 100% y una mediana de tiempo para el cierre de fístulas de 20 días, estos resultados respaldan el objetivo principal del estudio, el cuál era evaluar la eficacia clínica de este enfoque en el cierre de fístulas perianales en un entorno clínico. Además, la ausencia de complicaciones durante el tratamiento y el seguimiento reafirma la seguridad de esta terapia. Aunque uno de los pacientes experimentó una recurrencia de la fístula debido a la actividad de la enfermedad de Crohn, la alta tasa de éxito sugiere que las células ADSC podrían ser una adición valiosa al arsenal terapéutico para esta compleja y problemática condición. Por lo tanto, recomendamos la consideración de este tratamiento coadyuvante como una opción viable para los pacientes que presentan fístulas perianales complejas refractarias, especialmente aquellos que han mostrado resistencia o insuficiencia a los tratamientos convencionales.

Tabla 1. Características y desenlaces de los pacientes incluidos en el estudio

	Paciente 1	**Paciente 2**	**Paciente 3**	**Paciente 4**	**Paciente 5**
Edad	39	44	33	51	42
Comorbilidad	Hipertensión	Ninguna	Ninguna	CUCI	Hipertensión
Sedentarismo	Si	Si	Si	Si	No
Evolución de la fístula (meses)	5	3	8	2	3
Tipo y número de tratamientos	Fistulotomía (1)	Antibióticoterapia	Fistulotomía (2)	Ninguno	Fistulotomía (1)
Tiempo para cierre (días)	24	11	23	14	20
Recurrencia (tipo)*	No	No	No	Si (dos fístulas)	No
Complicaciones	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna

*El paciente presentó recurrencia a las dos semanas postratamiento secundario a actividad de su enfermedad de base

Figura 1. Evolución de la fístula postratamiento en el paciente 1.

La figura 1 muestra la evolución de la fístula en el paciente 1 después del tratamiento con células autólogas. Panel superior: dia de la intervención, panel intermedio: día +14, panel inferior: día +24 (cierre de la fístula).

Figura 2. Evolución de la fístula postratamiento en el paciente 3.

La figura 2 muestra la evolución de la fístula en el paciente 3 después del tratamiento con células autólogas. Panel superior: dia de la intervención, panel inferior: día +24 (cierre de la fístula).

Figura 3. Evolución de la fístula postratamiento en el paciente 4.

La figura 3 muestra la evolución de la fístula en el paciente 4 después del tratamiento con células autólogas. Panel superior: dia de la intervención, panel intermedio: día +7, panel inferior: día +23 (cierre de la fístula).

Figura 4. Evolución de la fístula postratamiento en el paciente 5.

La figura 4 muestra la evolución de la fístula en el paciente 5 después del tratamiento con células autólogas. Panel superior: dia de la intervención, panel intermedio: día +14, panel inferior: día +20 (cierre de la fístula).

Figura 1.

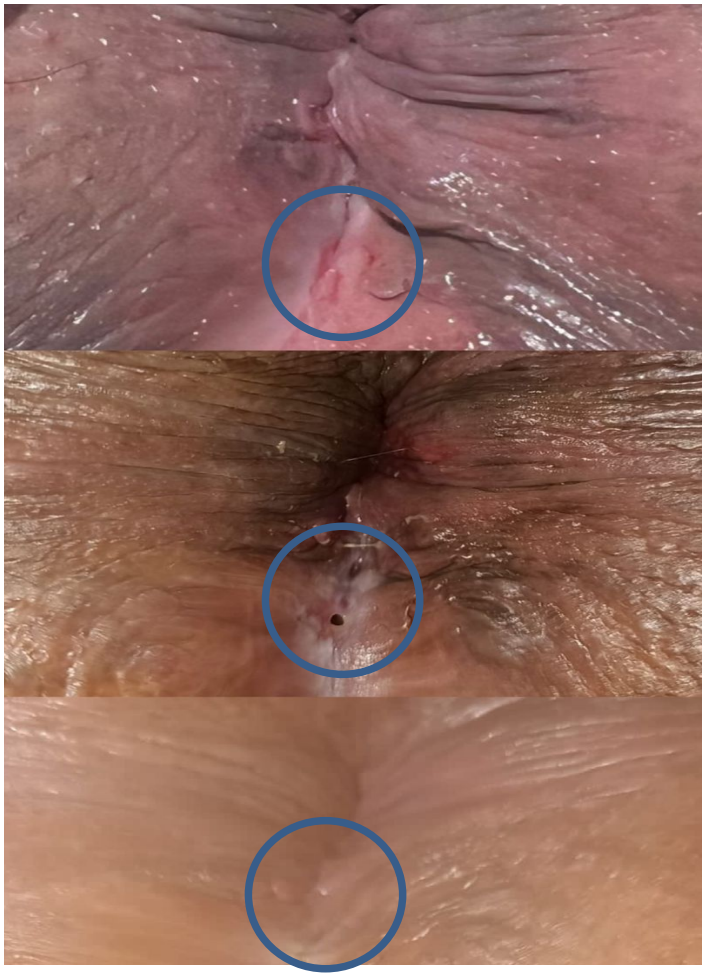


Figura 2.

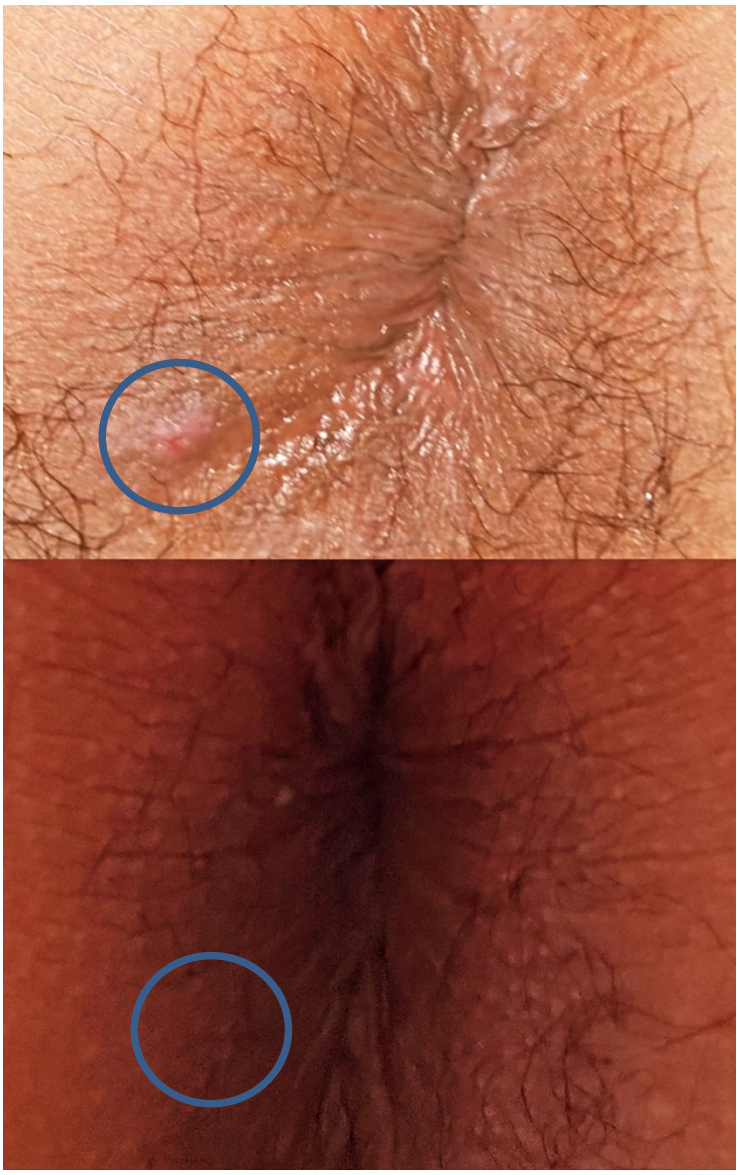


Figura 3.

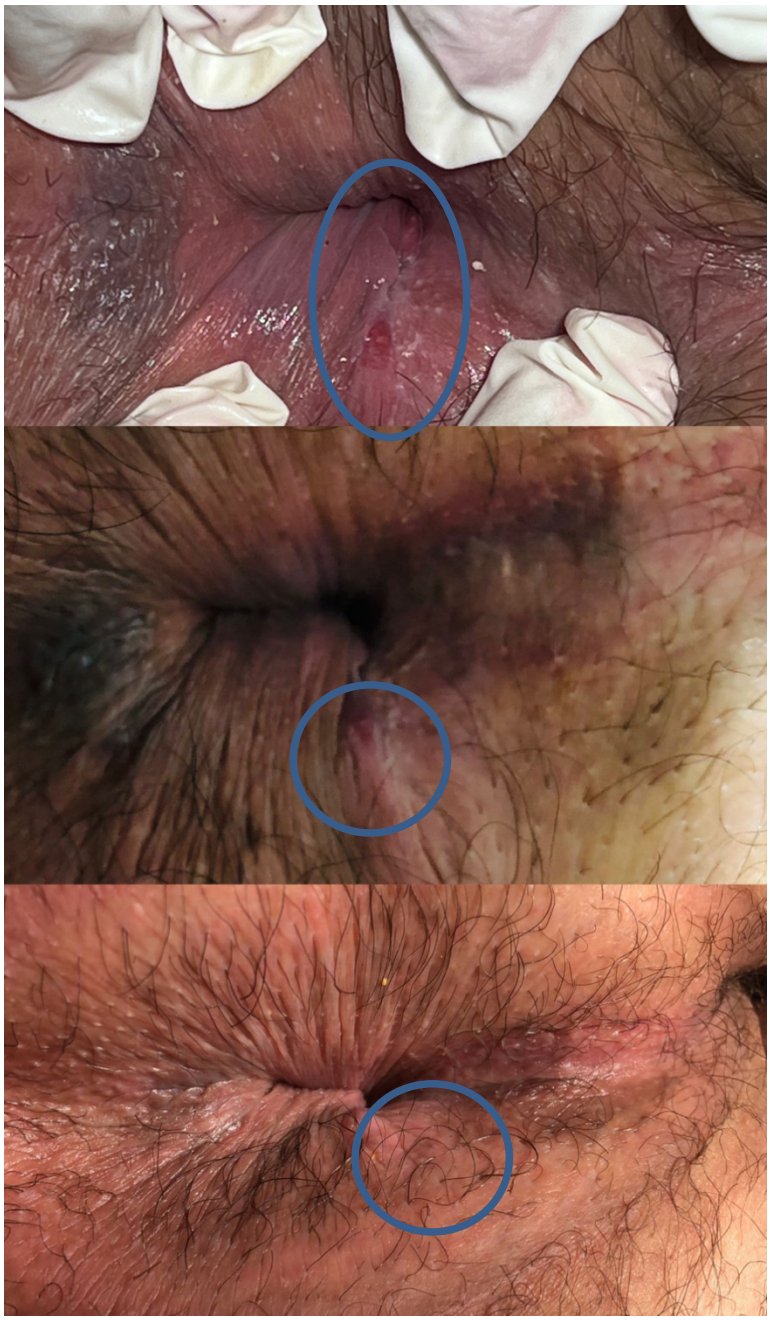
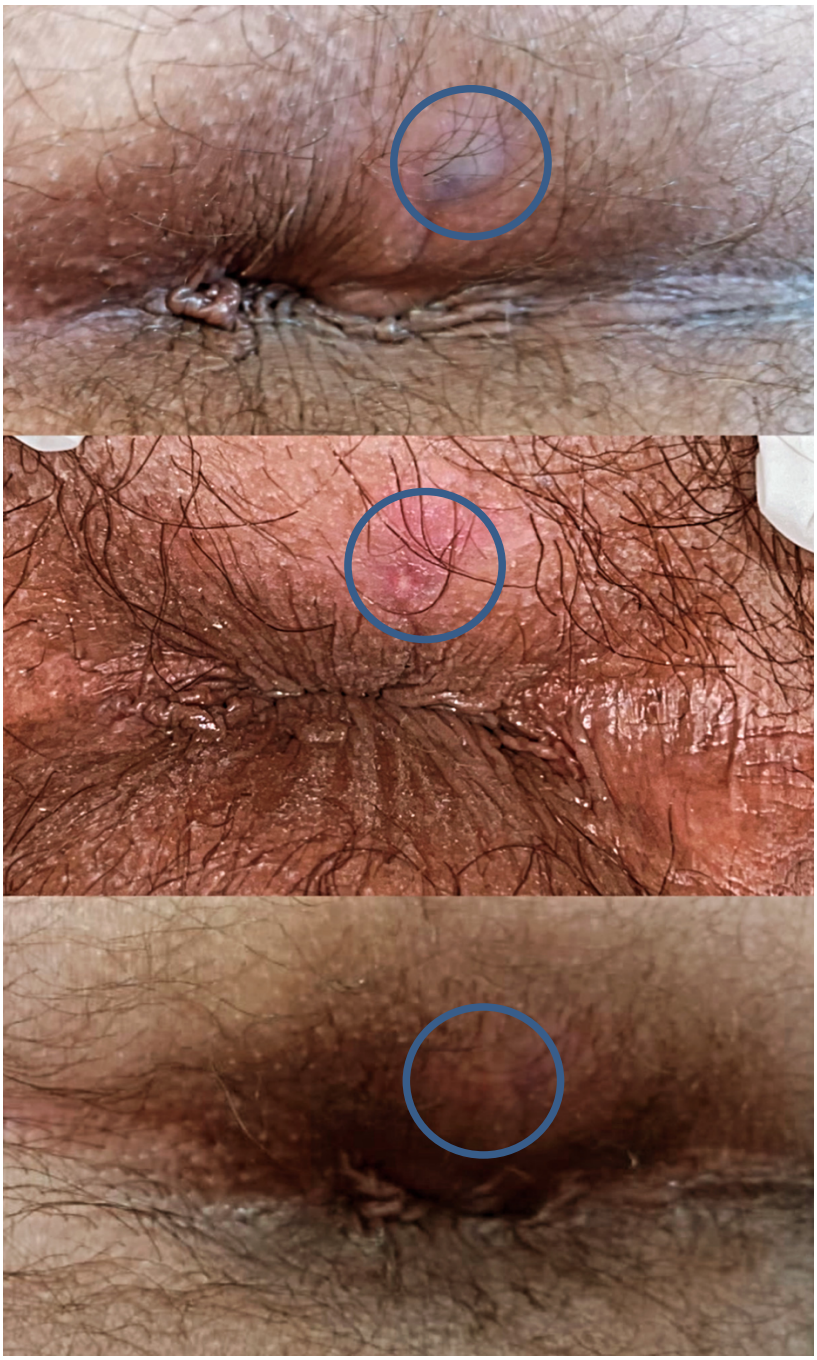


Figura 4.



BIBLIOGRAFIA

1. Domínguez A, Pitrella A, Noceti M. Fístulas perianales: caracterización con resonancia magnética. Vol. 81, Revista Argentina de Radiologia. 2017.
2. v W Fazio. Surgery of the colon and rectum. Am J Gastroenterol .
3. Dunn G. Principles and Practice of Surgery for the Colon, Rectum, and Anus. By Philip H.Gordon and Santhat Nivatvongs. World Journal of Surgery. 2007;31(11).
4. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. Vol. 117, Plastic and Reconstructive Surgery. 2006.
5. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. Vol. 117, Plastic and Reconstructive Surgery. 2006.
6. Goldberg SR, Diegelmann RF. Wound Healing Primer. Surgical Clinics of North America. 2010 Dec;90(6):1133–46.
7. Holm JS, Toyserkani NM, Sorensen JA. Adipose-derived stem cells for treatment of chronic ulcers: Current status. Vol. 9, Stem Cell Research and Therapy. 2018.
8. Ma T, Fu B, Yang X, Xiao Y, Pan M. Adipose mesenchymal stem cell-derived exosomes promote cell proliferation, migration, and inhibit cell apoptosis via Wnt/β-catenin signaling in cutaneous wound healing. Journal of Cellular Biochemistry. 2019;120(6).
9. Luck J, Weil BD, Lowdell M, Mosahebi A. Adipose-derived stem cells for regenerative wound healing applications: Understanding the clinical and regulatory environment. Aesthetic Surgery Journal. 2021;40(7).
10. Hassan WU, Greiser U, Wang W. Role of adipose-derived stem cells in wound healing. Vol. 22, Wound Repair and Regeneration. 2014.
11. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. PERSPECTIVE ARTICLE: Growth factors and cytokines in wound healing. Wound Repair and Regeneration. 2008;16(5).
12. Guo J, Hu H, Gorecka J, Bai H, He H, Assi R, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells accelerate diabetic wound healing in a similar fashion as bone marrow-derived cells. American Journal of Physiology - Cell Physiology. 2018;315(6).
13. Moon KM, Park YH, Lee JS, Chae YB, Kim MM, Kim DS, et al. The effect of secretory factors of adipose-derived stem cells on human keratinocytes. International Journal of Molecular Sciences. 2012;13(1).
14. Pilny E, Smolarczyk R, Jarosz-Biej M, Hadyk A, Skorupa A, Ciszek M, et al. Human ADSC xenograft through IL-6 secretion activates M2 macrophages responsible for the repair of damaged muscle tissue. Stem Cell Research and Therapy. 2019;10(1).
15. Naderi N, Combellack EJ, Griffin M, Sedaghati T, Javed M, Findlay MW, et al. The regenerative role of adipose-derived stem cells (ADSC) in plastic and reconstructive surgery. International Wound Journal. 2017;14(1).
16. Cai Y, Li J, Jia C, He Y, Deng C. Therapeutic applications of adipose cell-free derivatives: A review. Vol. 11, Stem Cell Research and Therapy. 2020.
17. Jo DI, Yang HJ, Kim SH, Kim CK, Park HJ, Choi HG, et al. Coverage of skin defects without skin grafts using adipose-derived stem cells. Aesthetic Plastic Surgery. 2013;37(5).
18. Zhou ZQ, Chen Y, Chai M, Tao R, Lei YH, Jia YQ, et al. Adipose extracellular matrix promotes skin wound healing by inducing the differentiation of adipose-derived stem cells into fibroblasts. International Journal of Molecular Medicine. 2019;43(2).
19. Bachmann S, Jennewein M, Bubel M, Guthörl S, Pohlemann T, Oberringer M. Interacting adipose-derived stem cells and microvascular endothelial cells provide a beneficial milieu for soft tissue healing. Molecular Biology Reports. 2020;47(1).

20. Huayllani MT, Sarabia-Estrada R, Restrepo DJ, Boczar D, Sisti A, Nguyen JH, et al. Adipose-derived stem cells in wound healing of full-thickness skin defects: a review of the literature*. Vol. 54, Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery. 2020.
21. van der Veen VC, van der Wal MBA, van Leeuwen MCE, Ulrich MMW, Middelkoop E. Biological background of dermal substitutes. Vol. 36, Burns. 2010.
22. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: A critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. Journal of Dermatological Science. 2007;48(1).
23. Kim WS, Park BS, Sung JH. The wound-healing and antioxidant effects of adipose-derived stem cells. Vol. 9, Expert Opinion on Biological Therapy. 2009.
24. Freedland M, Karmiol S, Rodriguez J, Normolle D, Smith D, Garner W. Fibroblast responses to cytokines are maintained during aging. Annals of Plastic Surgery. 1995;35(3).
25. Economou M, Pappas G. New global map of Crohn's disease: Genetic, environmental, and socioeconomic correlations. Vol. 14, Inflammatory Bowel Diseases. 2008.
26. Lee WY, Park KJ, Cho YB, Yoon SN, Song KH, Kim DS, et al. Autologous adipose tissue-derived stem cells treatment demonstrated favorable and sustainable therapeutic effect for crohn's fistula. Stem Cells. 2013;31(11).
27. García-Olmo D, García-Arranz M, Gómez García L, Cuellar ES, Blanco IF, Prianes LA, et al. Autologous stem cell transplantation for treatment of rectovaginal fistula in perinatal Crohn's disease: A new cell-based therapy. International Journal of Colorectal Disease. 2003;18(5).
28. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. Diseases of the Colon and Rectum. 2005;48(7).
29. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: A phase ii clinical trial. Diseases of the Colon and Rectum. 2009;52(1).
30. Kaisang L, Siyu W, Lijun F, Daoyan P, Xian CJ, Jie S. Adipose-derived stem cells seeded in Pluronic F-127 hydrogel promotes diabetic wound healing. Journal of Surgical Research. 2017;217.
31. Huang, E. Y., Zhao, B., Llaneras, J., Liu, S., Stringfield, S. B., Abbadessa, B., ... & Eisenstein, S. (2023). Autologous Fat Grafting: an Emerging Treatment Option for Complex Anal Fistulas. Journal of Gastrointestinal Surgery, 1-9.

ANEXOS

Consentimiento informado oficial

IMSS SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL	**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, NVESTIGACIÓN Y POLITICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (ADULTOS)**	

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN	
Nombre del estudio:	Eficacia clínica y en calidad de vida del tratamiento coadyuvante con dermoinyección de células estromales derivadas de adipocitos para cierre de fistulas perianales complejas refractarias en pacientes atendidos en el HEP
Patrocinador externo (si aplica):	NA
Lugar y fecha:	**UMAE HECMNMAC. Agosto 2022- Agosto 2023**
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	El tratamiento con células madre podría ha demostrado ser una nueva opción de tratamiento para pacientes con fistulas complejas que ya agotaron tratamientos sin adecuada cicatrización. Estas celulas grasas obtenidas por la aspiracion de grasa de su abdomen contienen células madre. Objetivo: Evaluar el tiempo de la cicatrizacion de su fistula perianal despues de lanyeccion de las celulas madre obtenidas de su grasa del abdomen.
Procedimientos:	Inyeccion dentro de su fistula anal las celulas madres de su grasa del abdomen
Posibles riesgos y molestias:	Dolor anal, irritación, prúrito, infección
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Cicatrización de fistula que reaparece a pesar del manejo quirurgico previo, compleja y sin acceso a otro tratamiento.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	La recolección de tejido graso de su abdomen, es segura y fácil. El tejido graso del abdomen contiene células madre de celulas que pueden ayudar a la cicatrización de la fistula que reaparece a pesar del manejo quirurgico previo.
Participación o retiro:	En caso de que usted no quiera participar en el protocolo de investigación por cualquier razón personal, continuaremos con la misma atención que usted se merece. Si usted no firma esta forma no afectará el cuidado a su salud que se le está dando en el Hospital. **Usted puede suspender el tratamiento de este estudio en cualquier momento, comunicándose con la dra. Saida Anyul Abud Flores, al 444 600 0248**
Privacidad y confidencialidad:	Los registros del estudio que a usted le identifiquen se mantendrán confidencialmente como lo indica la ley, dando protección para su privacidad, seguridad y acceso solo por personal autorizado a su expediente, como lo requiere el comité de ética del Hospital de especialidades Puebla tendrá cuidado de mantener confidencialmente su nombre, número de seguro, registro hospitalario, dirección, número de teléfono o cualquier dato personal directo en los registrados en el estudio.

En caso de colección de material biológico (si aplica):	
☐	No autoriza que se tome la muestra.
☐	Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
☐	Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):	
Beneficios al término del estudio:	Resolución de patología fistulosa

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:	
Investigador Responsable:	Dr. Arturo García Galicia
Colaboradores:	Dr. Carlos Alberto Bernal López, Dra. Saida Anyul Abud Flores

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del sujeto	Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento
Testigo 1 Nombre, dirección, relación y firma	Testigo 2 Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio

Clave: 2810-009-013

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE:

NSS: **TELEFONO:**

TIPO DE FISTULA	
ZONA HORARIA	
TIEMPO DE EVOLUCION	
TRAYECTO	
CRIPTA	
TRATAMIENTOS RECIBIDOS	
CIRUGIA	
COMORBILIDADES	

FECHA DE APLICACIÓN ADSC:

Topografía de la fistula:

_____

Macroscópicamente:

Día 1:

Día 7:

Día 14:

Día_____:

Descripción: