



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
CENTRO DERMATOLÓGICO “DR. LADISLAO DE LA PASCUA”

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN DERMATOLOGÍA

“ENSAYO CLÍNICO SOBRE LA EFICACIA DEL USO DE APÓSITOS DE FIBROBLASTOS CULTIVADOS SOBRE MATRIZ DE FIBRINA, COMPARADO CON APÓSITOS HIDROCOLOIDES, EN PACIENTES CON ÚLCERAS DE PIE DIABÉTICO”

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



PRESENTADO POR: DRA. VALERIA MONTSERRAT GÓMEZ MOLINAR
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA

DIRECTOR: DR. FERMÍN JURADO SANTA CRUZ

TUTOR: DRA. FABIOLA JIMÉNEZ HERNÁNDEZ

DR. ANDRES ELIÚ CASTELL RODRÍGUEZ

CO-TUTOR: DRA. MARTHA ALEJANDRA MORALES SÁNCHEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“ENSAYO CLÍNICO SOBRE LA EFICACIA DEL USO DE APÓSITOS DE FIBROBLASTOS CULTIVADOS SOBRE MATRIZ DE FIBRINA, COMPARADO CON APÓSITOS HIDROCOLOIDES, EN PACIENTES CON ÚLCERAS DE PIE DIABÉTICO”

AUTOR:

DRA. VALERIA MONTSERRAT GÓMEZ MOLINAR

VO.BO.

DR. FERMÍN JURADO SANTA CRUZ

DIRECTOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN
DERMATOLOGÍA

CENTRO DERMATOLÓGICO "DR. LADISLAO DE LA PASCUA"

VO.BO.

DR. IGNACIO CARRANZA ORTIZ

DIRECTOR DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN

Vo.Bo.

DRA. FABIOLA JIMÉNEZ HERNÁNDEZ
DR. ANDRÉS ELIÚ CASTELL RODRÍGUEZ
TUTOR

VO.BO.

CO TUTOR: DRA. MARTHA ALEJANDRA MORALES SÁNCHEZ
JEFE DE ENSEÑANZA DEL CENTRO DERMATOLÓGICO "DR. LADISLAO DE
LA PASCUA"

DEDICATORIA

Dedico ésta tesis a mi madre Virginia Rosalba Molinar Ramos y a mi hermana Adriana Lorena Gómez Molinar por ser los seres que mas amo y admiro en éste mundo así como por el apoyo y amor incondicionales, brindados durante toda mi vida y en especial en el momento de realizar éste trabajo.

A todos mis maestros del Centro Dermatológico Pascua y de la Facultad de Medicina quienes nunca desistieron al enseñarme y que continuaron depositando su esperanza en mí.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme formado como médico especialista de prestigio y por todas las oportunidades y conocimientos que me ha brindado.

A Dios por llevarme de la mano en éste trayecto de mi vida, ayudándome en todos los momentos de desesperanza y felicidad que viví en éstos años de residencia.

A todos ellos agradezco inmensamente por creer en mi y ayudarme a formar la persona que soy el día de hoy.

ÍNDICE

RESUMEN	6
1. ANTECEDENTES.....	8
<i>DIABETES MELLITUS. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN</i>	8
<i>Epidemiología</i>	10
<i>Etiopatogenia</i>	12
<i>Cuadro Clínico</i>	29
<i>Diagnóstico</i>	40
<i>Tratamiento</i>	43
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	58
3. JUSTIFICACIÓN.....	59
4. HIPÓTESIS.....	60
5. OBJETIVOS.....	61
5.1 <i>Objetivo general</i>	61
5.2 <i>Objetivos específicos</i>	61
6. METODOLOGÍA	62
6.1 <i>Diseño del estudio</i>	62
6.2 <i>Definición del Universo del Estudio</i>	62
6.3 <i>Criterios de Selección</i>	62
6.3.1 <i>Criterios de Inclusión</i>	62
6.3.2 <i>Criterios de Exclusión</i>	62
6.3.3 <i>Criterios de Interrupción</i>	63
6.3.4 <i>Criterios de Eliminación</i>	63
6.4 <i>Muestra</i>	63
7. DEFINICIÓN DE VARIABLES.....	65
8. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.....	68
9. ASPECTOS ÉTICOS.....	72
10. RECURSOS.....	73
10.1. <i>Humanos</i>	73
10.2. <i>Materiales</i>	74
11. RESULTADOS.....	75
11.1 <i>Análisis cuantitativo y cualitativo.</i>	76
12. DISCUSIÓN.....	87
13. CONCLUSIONES	91
14. ANEXOS.....	92
15. IMÁGENES.....	95
16. BIBLIOGRAFÍA.....	99

RESUMEN

La Diabetes Mellitus es una enfermedad crónica caracterizada por hiperglucemia. El 25% de los pacientes diabéticos desarrollan pie diabético, de éstos, 1 a 4% de las desarrollan úlceras anualmente. Las úlceras de pie diabético son heridas crónicas que tienen impacto importante en la morbilidad, mortalidad y calidad de vida de pacientes quienes las viven. En los pacientes diabéticos el proceso normal se encuentra alterado por múltiples factores intrínsecos, extrínsecos, inmunológicos y biológicos, especialmente en la función de los fibroblastos.

Un mejor entendimiento en la fisiopatogenia y biología molecular de heridas de pie diabético ayudan a encontrar mejores y mas eficientes soluciones en el tratamiento. Inicialmente se debe buscar la optimización en el control glicémico, realizar desbridación extensa, eliminar la infección existente, usar apósitos hidratantes y disminuir la presión en lecho de herida. En general se sabe que las heridas deben cubrirse con biomateriales adecuados para proteger a largo plazo de contaminación, infección, disección, y en caso de los medicados una liberación efectiva de las sustancias bioactivas y prevenir la degradación rápida.

Objetivo: Determinar la eficacia del uso de apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina, comparado con apósitos hidrocoloides, en pacientes con úlceras de pie diabético vistos en la Clínica de Úlceras del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”

Material y métodos: Al cumplir los criterios de inclusión y previa firma de consentimiento informado, se realizaron dos grupos de intervención, a los pacientes del grupo caso se les aplicaron apósitos de fibroblastos cultivados

sobre matriz de fibrina y a los pacientes del grupo control se les aplicaron apósitos hidrocoloides. A ambos grupos se les envió al servicio de Rehabilitación del Centro para realizar medidas de liberación de presión en el área afectada. Se realizó valoración semanal de los pacientes durante 8 semanas con reaplicación de los apósitos correspondientes. Se evaluó el área de la úlcera, dolor, islas de epitelio, tejido de granulación, fibrina y cantidad y características del exudado.

Resultados: La proporción de cierre de úlcera a las 8 semanas en el grupo caso fue de 90.91% vs 9.01% en el grupo control ($p=0.001$). El tiempo medio de cierre completo fue de 4 semanas en el grupo tratado con fibroblastos cultivados, comparado con más de 8 semanas en el grupo tratado con apósitos hidrocoloides. La velocidad de reducción de área promedio fue de 0.21 cm²/día para el grupo de fibroblastos y de 0.032 cm²/día ($p=0.001$). Hubo una reducción significativa en la intensidad del dolor en el grupo caso en comparación con el grupo control. Las islas de epitelio se incrementaron gradual y notablemente en el grupo caso, en comparación con el grupo control. Hubo mayor adherencia al tratamiento en el grupo caso (92%) que en el grupo control (81%).

Conclusión: La aplicación de apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina favorece el cierre de úlceras de pie diabético en aproximadamente 8 semanas y con mayor rapidez que los apósitos hidrocoloides. Al crear un apósito que incluya fibroblastos cultivados sobre un andamio de fibrina (ambos tejidos biológicos) disminuye considerablemente el costo de los mismos, aunado a el efecto benéfico que se ha demostrado, pueden considerarse como una línea de tratamiento en éstas úlceras.

1. ANTECEDENTES.

DIABETES MELLITUS. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, causada por defectos en la secreción y acción de insulina o ambas. La hiperglucemia crónica esta relacionada con el daño prolongado, disfunción y falla de diferentes órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos, responsables en una alta morbimortalidad en estos pacientes.¹

Se han involucrado diferentes procesos patogénicos en el desarrollo de la DM como son la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas, con la deficiencia consecuente de insulina y la resistencia a la acción de la insulina.¹

Clasificación de la Diabetes Mellitus

- Tipo1 o insulino dependiente: Consta del 5 a 10 % de los pacientes diabéticos. Causada por la destrucción autoinmune de células beta del páncreas (medida por los autoanticuerpos dirigidos contra las células de los islotes, insulina, GAD 65 y tirosina fosfatasa 1A-2) provocando una dependencia de la insulina exógena; la edad de inicio es en menores de 15 años de edad y solo 20 a 50 % son diagnosticados antes de esta edad.
- Tipo 2 (no insulino dependiente): Consta del 90 a 95% de los pacientes diabéticos. Causada por una resistencia a la insulina, provocando un aumento en los niveles de secreción de insulina, así mismo una disminución en la captación de la misma por tejidos periféricos; la edad de

- inicio es después de la tercera década y está asociada a obesidad y sedentarismo.
- Gestacional: definida como intolerancia a la glucosa de inicio durante el embarazo, la mayoría de los casos remite con el parto, sin embargo puede persistir indefinidamente o tener una predisposición al desarrollo de la DM tipo 2. Afecta en promedio al 7% de los embarazos (1 al 14%)
 - Otros: Defectos genéticos de células beta (MODY), defectos genéticos en la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exócrino, endocrinopatías, inducida por fármacos, infecciones, etc.

Criterios Diagnósticos para Diabetes Mellitus.

1. HbA1c: >6.5%.
2. Glucosa en ayuno (8hrs): >126 mg/dL
3. Curva de tolerancia a la glucosa: 2 horas después >200mg/dL
4. Glucosa aleatoria > 200 mg/dL en pacientes con síntomas clásicos de hiperglucemia.

El daño crónico de diferentes los órganos, conlleva a la aparición de complicaciones macro y microvasculares, las cuales conducen a una mala calidad de vida, muerte prematura y reducción en la esperanza de vida. Las complicaciones macrovasculares son las relacionadas a la aterosclerosis como la enfermedad arterial coronaria, periférica vascular y cerebrovascular, las microvasculares ocasionan nefropatía, neuropatía y retinopatía.²

En cuanto a las úlceras de pie diabético (UPD), están causadas por una alteración micro y macrovascular, que ocasiona lesiones crónicas en la integridad de la piel, teniendo un impacto importante en la morbilidad, mortalidad y calidad de vida de pacientes quienes las viven.³

En general se sabe que las heridas deben cubrirse con apósitos adecuados para proteger a largo plazo de contaminación, infección, desecación, y en caso de los medicados, permitir una liberación efectiva de las sustancias bioactivas y prevenir la degradación rápida.⁴

EPIDEMIOLOGÍA

Hay mas de 361 millones de personas diabéticas en el mundo y 4.8 millones de personas mueren a causa de la misma. Por otro lado a nivel mundial se estima que para el año 2030 el número de personas diabéticas se incrementará a 439 millones, lo que representa el 7.7% de la población adulta.^{5,6} Para el 2011, la OPS y OMS, estiman que en el continente Americano hay aproximadamente 62.8 millones de personas con diabetes y podría incrementarse de 25 a 40 millones en el año 2030.⁷

De acuerdo a las cifras emitidas por el INEGI en el 2012, la DM constituyó la segunda causa de muerte en la población mexicana con una tasa de mortalidad de 75 defunciones por cada 100 mil habitantes.⁸

El 25% de los pacientes diabéticos desarrollarán pie del diabético durante la evolución de la enfermedad, de éstos, 1 a 4% progresarán anualmente a úlceras. Cada 20 segundos es amputada una pierna a causa de la diabetes y la mortalidad aumenta con el nivel de amputación. La mortalidad es en promedio

del 50 a 68% , similar a las peores cánceres, siendo responsable de enormes costos médicos y alteraciones en la calidad de vida, por la inminente progresión a la amputación ya que el 85% de las amputaciones son causadas por pie diabético. ^{7,8}

La importancia de la revisión de pies rutinaria en pacientes diabéticos y la identificación de pies en alto riesgo esta subestimada por la naturaleza asintomática de la enfermedad. El reconocimiento temprano de estos pacientes, así como su tratamiento oportuno disminuyen el riesgo de amputación, muerte por complicaciones así como mejoría en su calidad de vida. ⁹

La DM es una enfermedad metabólica crónica que involucra enormes costos, en países en desarrollo, el aumento en el número de éstos pacientes, tiene un impacto negativo en los sistemas de salud. En promedio 2.5 a 15% del gasto global anual en salud se gasta en DM y sus complicaciones, por lo que una detección y control adecuados son necesarios para evitar costos excesivos.⁷ Tiene un importante impacto económico en los Sistemas de Salud Nacionales e Internacionales, siendo un gasto sanitario anual de 471 miles de millones de dólares. ¹⁰

Para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con úlceras de pie diabético, se requiere el control optimo de la diabetes, cuidado local efectivo de heridas, control de infecciones, estrategias para la liberación de sitios de presión y restauración de flujo sanguíneo.

La DM tiene una gran variedad de complicaciones a corto y largo plazo. Los pacientes diabéticos tienen 15 a 25% de posibilidades de desarrollar una UPD durante su vida y un 50 a 70% de recurrencia después de 5 años, lo cual impacta de manera negativa su calidad de vida. ¹¹ Una vez producida la UPD, la curación es lenta, en promedio >4 meses.

Del 20 al 25% de todos los ingresos hospitalarios de pacientes diabéticos, son causados por complicaciones de PD. El riesgo de amputación en estos pacientes es 15 a 46 veces mas alta que en pacientes no diabéticos, así mismo, el riesgo de una amputación en la extremidad contralateral es del 9 al 15% en el primer año. ¹²

El tratamiento temprano es importante para prevenir la progresión, necrosis, gangrena y amputación ya que el 56% de las úlceras están infectadas y de éstas un 20% progresan a amputación.

ETIOPATOGENIA

Un mejor entendimiento en la fisiopatogenia y biología molecular de las heridas ayudan a encontrar mejores y mas eficientes soluciones en el tratamiento; las terapias actuales están destinadas a promover la curación activa de heridas incluso con corrección de factores biológicos en el proceso de curación de heridas.

CICATRIZACIÓN NORMAL.

Posterior al daño cutáneo, el tejido lesionado se repara a partir de acciones biológicas coordinadas, que involucran la diferenciación, migración, proliferación y apoptosis de diversos tipos celulares para crear un tejido multicapa que

constituye a la piel; este proceso fisiológico de curación de heridas incluye tres fases, las cuales pueden ser simultáneas.^{13, 14}

1. Hemostasia/ inflamación. Cuadro 1.

Inicia cuando al dañarse los vasos, se exponen a la luz componentes de la matriz extracelular (MEC) tales como la colágena, fibronectina, laminina y trombospondina. Ocurre inmediatamente después de la lesión, y su función es prevenir la pérdida sanguínea con la formación de un coágulo estable.

- a. Agregación plaquetaria: causada por la activación y degranulación plaquetaria mediada por ADP , con liberación de citocinas y mediadores vasoactivos tales como epinefrina, tromboxanos y prostaglandinas. Liberan el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) el cual tiene un papel importante en la promoción de la cicatrización. Secretan factores de crecimiento y citocinas (TGF-B, proteína quimioatrayente de monocitos o MCP-1) que inician la curación formando un tapón de fibrina.
- b. Vasoconstricción: mediado por sustancias vasoactivas liberadas por plaquetas. Seguida de vasodilatación en la que las plaquetas invaden el trombo provisional.
- c. Coagulación: Se inicia por la piel lesionada (vía extrínseca) y por las plaquetas activadas (vía intrínseca). El fibrinógeno producido por las plaquetas es convertido a fibrina por el factor XIII y convierte el trombo en un coágulo compacto y adhesivo.

Al completar el proceso de formación de un coágulo estable, se echan a andar mecanismos de lisis para evitar la coagulación excesiva e ilimitada.

Cuadro 1. Mediadores implicados en la fase de hemostasia ^{13,15}

Mediador	Origen	Función
PDGF	Plaquetas	Activación de células inmunológicas. Activación de fibroblastos para aumentar depósitos de MEC y síntesis de colágena. Aumento del inhibidor tisular de metaloproteinasas (TIMP)
TGF-B	Plaquetas Macrófagos	Activación y quimiotaxis de fibroblastos para aumentar depósito de MEC y síntesis de colágena. Modulación de las metaloproteinasas de la matriz
IGF-1	Plaquetas	Estimulación de queratinocitos y fibroblastos Proliferación del endotelio Angiogénesis Síntesis de colágena
EFG	Plaquetas	Proliferación y migración de queratinocitos Depósito de MEC
IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6, TNF alfa	Leucocitos Plaquetas	Estimulan la síntesis de colágena
FGF-2, IGF-1 y TGF beta	Leucocitos Plaquetas	Activan la transformación de fibroblastos a miofibroblastos Promueven la angiogénesis Promueven el proceso de reepitelización

2. Inflamación: Cuadro 2

Se lleva a cabo en los próximos 7 días.

- a. Temprana: 2 a 5 días. Mediado principalmente por neutrófilos, los cuales ayudan a prevenir la contaminación, llevan a cabo funciones proteolíticas y oxidativas, así como liberación de estímulos para magnificar la respuesta y atraer mas células inflamatorias.
- b. Tardía: 3er día. Los monocitos son atraídos por factores quimiotácticos y se diferencian en la herida a macrófagos los cuales fagocitan bacterias y tejidos no viables, promueven la liberación de factores de crecimiento

angiogénicos, formando provee la base para la formación de matriz extracelular provisional.¹⁶

Cuadro 2. Mediadores implicados en la fase de Inflamación^{15,16}

Mediador	Origen	Función
Neutrófilos	TNF alfa, IL-1 beta, IL-6 Péptidos catiónicos, eicosanoides. Elastasas	Amplificación de la respuesta inflamatoria Estimulan la función de VEGF e IL-8 Antimicrobianos Proteinasas
Macrófagos	TGF beta, TGF alfa FGF, PDGF, VEGF	Funciones en la presentación de antígenos Promueve proliferación celular y síntesis de MEC

3. Proliferación. Cuadro 3

Se lleva a cabo del día 3 al 20. El objetivo principal es cubrir la superficie de la herida, formar tejido de granulación y restaurar la red vascular. Se alcanza la mayor fuerza tensil (85% de la inicial).

- a. Fibroplasia y síntesis de matriz extracelular: formación de tejido de granulación, hay gran cantidad de vasos capilares que invaden la población celular constituida por 7% de células endoteliales, 18% leucocitos, 11% granulocitos y monocitos, 57% fibroblastos y 7% células T embebido en tejido conjuntivo laxo. Contiene proteínas estructurales (colágena y elastina) así como proteínas de adhesión (colágena, fibronectina, laminina y tenascina. Debe haber una interacción adecuada entre las células, citocinas, metaloproteinasas, TIMP y MEC para favorecer la curación y evitar la cronicidad de las heridas. Al final de esta fase, existe una transformación de fibroblastos a miofibroblastos los cuales experimentan

un fenómeno de contracción de su citoesqueleto que se transmite al entorno donde se encuentran, lo que se traduce en la contracción de la herida.

- b. **Angiogénesis:** es imprescindible para la cicatrización correcta de las heridas. Se genera a partir de vasos capilares remanentes que reciben una gran variedad de estímulos. Es una cascada compleja de eventos celulares, humorales y moleculares. Inicia con la unión de factores de crecimiento a sus receptores en las células endoteliales, activando cascadas de señalización intracelular. Las células endoteliales secretan enzimas proteolíticas que disuelven la membrana basal, las cuales migran y proliferan en el sitio de la herida, para así formar nuevos vasos.
- c. **Regeneración axonal:** Se regeneran cuando el daño no es severo. Inicialmente hay degeneración Walleriana (cuando la fibra nerviosa se degrada al separarse del cuerpo neuronal), y si el cuerpo se mantiene viable, comienza a producir una nueva fibra, siendo un proceso muy lento de aproximadamente 3 mm por día.
- d. **Epitelización.** Las células de las estructuras epiteliales residuales se mueven al sitio dañado, en la piel, los queratinocitos de la piel o del folículo piloso, se desplazan uno sobre otro y se forman generaciones de células que se dividen horizontal y perpendicularmente. Por otra parte las células madres epiteliales contribuyen a la formación de epidermis nueva, manifestada como islas de piel en el centro de una herida en reparación. Posteriormente debe existir una eliminación temporal de la unión dermoepidérmica y de los desmosomas. La piel nueva carece inicialmente

de queratinas clásicas de un epitelio poliestratificado (persisten las producidas por los queratinocitos basales) y de filagrina; con el tiempo reaparecen las proteínas de la membrana basal del margen de la herida al centro.

Cuadro 3. Mediadores implicados en la proliferación

Mediador	Función
Colágena I	Contribuye a la gran fuerza de tensión y a su resistencia a la deformación
Colágena V	Esta organizada como filamentos finos que tiene un papel en la organización de los componentes de la MEC con el citoesqueleto celular
Fibronectina	Promueve la interacción de fibroblastos y otras células con la MEC
Laminina	Promueve unión de células epiteliales a la lamina basal
Tenascina	Regula la adhesión según el tipo de receptores que presente la célula.
Glucosaminoglucanos	Forman sustancia fundamental donde se encuentran las proteínas. fibrosas. Resiste fuerzas de compresión, permite la difusión de nutrientes.
IL-1 y TNF alfa	Incrementan la proliferación de fibroblastos Incrementan la síntesis de colágena Aumentan las metaloproteinasas y disminuyen TIMP
FGF, TGF beta, PD-ECGF, angiogenina, angiotropina, VEGF, IL-8, PDGF. Acido láctico	Producidas principalmente por macrófagos Estimulan a las células endoteliales la liberación de un grupo de enzimas proteolíticas que permiten la digestión de la membrana basal con la posterior migración de la célula endotelial, fibrina y fibronectina para la formación de tubos capilares que posteriormente se diferencian a arterias y vénulas.
Colágena III	En fase de remodelación se reemplaza por la tipo I, la cual se dispone en haces paralelos.

4. Remodelación. Cuadro 4

Es la última fase, ocurre desde el día 21 hasta después de año. La formación de tejido de granulación se detiene por la apoptosis celular, por lo que una herida madura es avascular y acelular. Durante la maduración de la

herida los componentes de la MEC cambian. Mas tarde, los fibroblastos se transforman en miofibroblastos los cuales causan contracción de la herida por sus uniones a la colágena, disminuyendo el área de la herida. El proceso de angiogénesis disminuye, el flujo sanguíneo disminuye y la actividad metabólica de la herida termina. Por ultimo, la formación de colágenas tipo I, III y V coadyuva a la fuerza tensil de la herida. Otra fase muy importante de la remodelación es la necesidad de eliminar el exceso de material depositado mediante las metaloproteinasas las cuales tienen una función catalítica. Existen mas de 20 enzimas proteolíticas, las cuales incluyen las colagenasas, gelatinasas, estromelisinias y las de membrana; están reguladas y controladas por la inhibición a través de inhibidores tisulares de metaloproteasas.

Cuadro 4. Células implicadas en la remodelación de heridas. ¹⁷

Célula	Función
Queratinocitos	Liberación de citocinas y factores de crecimiento con reclutamiento de otras células y estimulando formación de la matriz y angiogénesis Migran y proliferan en el lecho de la herida para acelerar el crecimiento Después de la lesión secretan IL-1 Expresan K6, 16 y 17 (primeros marcadores de curación).
Fibroblastos	Su interacción con queratinocitos es crítica para el cierre de la herida. Migran, proliferan y producen la MEC durante la reparación tisular Provee propiedades constrictoras al convertirse en miofibroblastos (medida por TFGbeta1 y fuerzas tensiles)
Células endoteliales	Invasión y migración a la matriz extracelular para la formación de vasos inmaduros durante la angiogénesis
Neutrófilos	Desde el inicio se agregan al coagulo, liberando múltiples factores que amplifican la respuesta inflamatoria Células predominantes en la fase temprana de la inflamación Extravasación mediada por IL-1 beta, TNF- alfa e IFN-

	<p>gamma. Rol bactericida mediado por especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico. Resolución del coágulo de fibrina, promoción de angiogénesis y reepitelización.</p>
Macrófagos	<p>Células predominantes en la fase tardía de la inflamación Reclutamiento por citocinas y factores de crecimiento producidos por las plaquetas. Tipo 1: proinflamatorios Tipo 2: antiinflamatorios y proangiogénicos. Promueve producción de MEC por queratinocitos</p>
Células madre	<p>Localizadas en el promontorio del folículo piloso, en la base de la glándula sebácea y en la capa basal de la epidermis Formación de distintos linajes celulares para la reparación y cierre de la herida.</p>

En general el proceso de curación de heridas requiere un balance entre acumulación de matriz extracelular colágena y no colágena. El remodelamiento esta determinado por metaloproteinasas de matriz (desbridamiento) e inhibidores tisulares de metaloproteinasas.¹⁸

En el proceso de curación de heridas, se requiere una adecuada oxigenación tisular para el aporte necesario de nutrientes, sin embargo existen fases en la cicatrización de heridas que se estimulan con la hipoxia, como el depósito de colágena, la angiogénesis y la proliferación de células endoteliales y fibroblastos.^{19, 20}

Es importante conocer el proceso normal de la cicatrización de heridas para así poder descartar la aparición de una herida crónica, en la cual se encuentra una alteración en cualquiera de los pasos de la cicatrización de heridas antes mencionados.

CICATRIZACIÓN EN LA DIABETES MELLITUS

En los cuanto a las úlceras de pacientes diabéticos el proceso normal de cicatrización se encuentra alterado por múltiples factores (intrínsecos y extrínsecos) sinergizándose entre sí y crean un ciclo patológico. En general la fase inflamatoria está prologada y hay una alteración en la formación del tejido de granulación. En un metaanálisis se documentó que la tasa de curación de estas heridas a las 20 semanas fue del 31%.²¹

El trauma repetido reinicia el proceso de cicatrización por una alteración de la biomecánica aplicado a un pie insensible por neuropatía. La neuropatía no solo esta relacionada con la señalización nerviosa, también modula el medio local de la herida liberando neuropéptidos como factor de crecimiento neural, sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina; los cuales tienen un papel en la modulación de la respuesta inmune, demostrando que áreas de piel denervadas tienen menor infiltración de leucocitos.²²

La hiperglucemia tiene un efecto deletéreo por la formación de productos terminales de la glucosilación avanzada, induce la producción de moléculas inflamatorias que alteran la síntesis de la colágena, también aumenta la actividad de la aldosa reductasa y aumenta la actividad de la proteína C cinasa (PKC). La activación de PKC aumenta el estrés oxidativo causando una alteración en la proliferación y diferenciación de queratinocitos. Existe evidencia suficiente que sugiere que los productos terminales de la glucosilación avanzada (PTGA) interfieren con el depósito normal de MEC por una reticulación anormal

de las proteínas de matriz.²³ Se ha encontrado una relación directamente proporcional entre el nivel de HBA1c y el tiempo de curación de heridas.²⁴

Existen factores inmunológicos relacionados el origen de úlceras de pie diabético. Hay una disminución en la quimiotaxis, fagocitosis, expresión de proteínas de choque térmico en las fases iniciales, así como alteración en la infiltración de leucocitos, biodisponibilidad de citocinas y factores de crecimiento en fases tardías, los cuales tienen un papel importante en la proliferación, diferenciación y migración, dando pie a la cronicidad de las heridas. Por otra parte se encuentra un aumento en la degradación de factores de crecimiento en tejidos de heridas de diabéticos.²⁵

La alteración en la respuesta inmunológica de los diabéticos es de predominio celular, especialmente en la función de leucocitos y su toxicidad, condicionando al paciente diabético mas susceptible a infecciones. Para disminuir la carga bacteriana en el lecho de la úlcera se ha descrito que debe haber predominio de las células T CD4+ en comparación con las CD8+. Un estudio reveló que en pacientes diabéticos, no hay un aumento en esta relación, reflejando un defecto en la respuesta de los linfocitos. El daño bacteriano causa retraso en la curación de heridas aumentando la morbimortalidad en estos pacientes.^{23,26}

Otro factor es el desequilibrio en la remodelación, encontrándose un aumento en metaloproteinasas de matriz y disminución en los inhibidores de metaloproteinasas en heridas crónicas, lo cual desencadena una destrucción tisular e inflamación tisular sostenida que impide la formación de nueva matriz.^{26,27} Hay aumento especialmente de la MMP 2, 8, 9, 24 y MMP 26

asociado a una disminución en la concentración de TIMP2 en UPD.²⁸ Como resultado de esto, hay una disminución en la fuerza tensil de estas heridas.

Una alteración funcional en las células madres derivadas del tejido adiposo, favorecen una disminución en la proliferación y migración de queratinocitos y fibroblastos.^{29,30} La sobreexpresión de EGF, GM-CSF y TGF β 1 tienen un papel importante en la desregulación de la proliferación, migración y apoptosis de queratinocitos.

Los fibroblastos tienen un papel imprescindible en la curación de heridas, se ha reportado que en pacientes diabéticos hay una respuesta subóptima de éstos a estímulos mitogénicos (mediada por EGF, IGF-1, β FGF, PDGF, GM-CSF y VEGF), con la producción de niveles bajos de factores de crecimiento y colágena. La capacidad proliferativa de los fibroblastos en úlceras de pacientes diabéticos es mas lánguida en comparación con los pacientes no diabéticos.³¹

Se han reportado múltiples cambios morfológicos en los fibroblastos localizados en UPD tales como aumento en el tamaño, distención, múltiples cuerpos vesiculares, retículo endoplásmico dilatado y una alteración en su estructura microtubular, adicionado a esto, se encuentran en menor número y con una capacidad proliferativa disminuida contribuyendo al retraso en la cicatrización de heridas.^{32,33}

Los fibroblastos aislados de heridas de pie diabético tienen menor poder regenerativo y se han encontrado cambios asociados con senescencia celular por aumento en las concentraciones séricas de glucosa, así mismo el liquido de heridas crónicas e inhibe la proliferación fibroblastos.^{34,35}

Los fibroblastos con el tiempo se tornan senescentes, perdiendo su capacidad angiogénica, las células endoteliales tienen menor poder de reproducción, hay un desbalance entre la formación de MEC y su remodelación por MMP y el exudado de las heridas crónicas que en conjunto, bloquean la proliferación celular y angiogénesis.³⁶

La vasculopatía y las alteraciones en las células endoteliales están relacionadas con un desequilibrio entre la alta demanda metabólica y la aportación disminuida (relacionada con la vasculopatía) impide la curación.³⁷ Se tiene una reducción en el flujo sanguíneo y aumento en la presión hidrostática que se produce por la hialinización arteriolar, ocasionando isquemia funcional en el tejido afectado.³⁸

Como podemos ver, las UPD son heterogéneas por lo que el tratamiento y pronóstico varían mucho en la presencia o ausencia de enfermedad arterial, grado de neuropatía, localización de la úlcera, deformidad de Charcot o la propensión a la infección.

ÚLCERAS CRÓNICAS- PIE DIABÉTICO.

Las heridas crónicas son aquellas que fracasan en el proceso de cicatrización normal entrando en inflamación patológica y crónica, siendo las causas más frecuentes las úlceras venosas y las úlceras de pie diabético (UPD). Antes se definían como aquellas que no han epitelizado en 21 días, sin embargo, recientemente se describe como aquellas que no han seguido el proceso ordenado y en tiempo para producir integridad anatómica y funcional. La mayor complicación de estas heridas crónicas es la contaminación, sin embargo, aumenta el riesgo de malignización, gangrena y amputación.³⁹

Están implicados diversos factores, como el aumento en la MMP que degradan de manera continua la matriz extracelular, la carga bacteriana que puede formar biopelículas que le confieren gran resistencia, la presencia de cuerpos extraños o tejido necrótico que generan un estímulo inflamatorio constante.

Comparten características tales como un aumento en las proteasas (plasmina y metaloproteinasas), aumento en las especies reactivas de oxígeno, disminución en la vascularización por alteración en la formación de vasos, lo que conlleva a la destrucción de matriz extracelular, senescencia de fibroblastos y queratinocitos, alterando la barrera epidérmica. Los queratinocitos no migran al lecho de la úlcera y la reepitelización se retrasa o se inhibe.⁴⁰

Los fibroblastos caen en un periodo de senescencia, en donde su función está agotada, ya no sintetizan matriz, ni proliferan en la tasa necesaria para la reparación de la lesión, presentan cambios cuantitativos y cualitativos de factores de crecimiento que provoca que la evolución de la herida se vuelva tórpida.

Independientemente de los factores antes mencionados, se encuentran otros factores inherentes a los pacientes, que condicionan que la herida se torne crónica tales como: la edad avanzada, padecimientos concomitantes como la Diabetes Mellitus, insuficiencia arterial o venosa, hipertensión, colagenopatías; el dolor crónico en la herida, medicamentos (AINES, esteroides, inmunomoduladores) y factores biopsicosociales como el nivel educativo, socioeconómico y anímico.¹⁰

Existen múltiples anormalidades bioquímicas que aceleran el proceso del desarrollo de PD, incluyendo hiperglucemia que inhibe la producción y activación

de la óxido nítrico sintasa endotelial y la reacción de las proteínas con azúcares (reacción de Maillard).

La fisiopatología de las UPD está originada por múltiples factores incluyendo la neuropatía periférica, enfermedad vascular (arterial), citocinas inflamatorias y susceptibilidad a la infección.⁴¹

1. Neuropatía.

La tasa de UPD aumenta con la neuropatía, siendo el factor de riesgo más importante para su desarrollo. Relacionada con el tiempo y severidad a la exposición de niveles altos de glucosa.

Inicia a los 10 a 20 años del diagnóstico de diabetes y aproximadamente 50% de los pacientes diabéticos desarrollan daño neural en algún momento. La prevalencia va del 7% en el primer año después del diagnóstico hasta 50% después de los 25 años de diagnóstico.

Existen diversos mecanismos implicados en el desarrollo de la neuropatía, tales como el bloqueo del óxido nítrico y la reacción de Maillard

Bloqueo de óxido nítrico: la hiperglucemia, Dislipidemia, resistencia a la insulina y estrés oxidativo ocasionan daño celular y disfunción endotelial.

La hiperglucemia inhibe la producción de óxido nítrico bloqueando la activación de la óxido nítrico sintetasa endotelial, la cual ocasiona aumento en los niveles de especies reactivas de oxígeno (en especial el superóxido), las cuales causan lipoperoxidación dañando el endotelio vascular y aumentando la agregación plaquetaria, citocinas

proinflamatorias y formación de aterotrombosis especialmente en vasos pequeños de nervios periféricos.

Reacción de Maillard: reacción entre azúcares reducidos y grupos amino de biomoléculas que producen los productos finales de la glucosilación avanzada, los cuales desencadenan aterosclerosis.⁴²

La neuropatía ocasiona deformidad del pie y una movilidad articular limitada, resultando en una presión anormalmente distribuida sobre el pie, con la formación subsecuente de callo en puntos de presión. El callo aumenta la presión local y combinado con un daño repetitivo provoca inflamación, necrosis y finalmente una úlcera.

Por otra parte, la neuropatía diabética alteran la producción de neuropéptidos como sustancia P, factor de crecimiento neural, entre otros, que son relevantes para la curación de heridas, siendo que promueven la quimiotaxis, crecimiento y proliferación celular. Los nervios sensitivos juegan un papel importante en la modulación del sistema inmune, demostrado por una disminución en la infiltración de leucocitos (monocitos, macrófagos y linfocitos) en áreas cutáneas denervadas.^{22,43}

Se clasifica en periférica, autonómica, proximal o focal. Presentan alteraciones sensitivas (sensibilidad protectora), motoras (atrofia, deformidades y alteración en biomecánica) y autonómicas (alteraciones en la sudoración y regulación vascular).

Los músculos plantares son los primeros afectados, la pérdida de inervación distal crea una tracción desequilibrada desde los músculos proximales de la superficie dorsal del pie. Esta diferencia de presión

resulta una deformidad adicional llamada dedos en garra (dorsiflexión de las falanges proximales en la articulación metatarsofalángica, combinada con flexión de ambas articulaciones interfalángicas (proximales y distales); sin embargo, también puede desarrollarse dedos en martillo, caracterizados por una deformidad en la articulación metacarpofalángica proximal e interfalángica de los dedos, causando flexión similar a un martillo.⁴⁴

Estas deformidades, aunadas a la presión localizada constante y al uso de calzado inapropiado, están relacionadas con un daño cutáneo y el desarrollo de úlceras.

2. Vasculopatía.

La enfermedad macro y microvascular en personas diabéticas altera la curación de heridas de manera importante. Se desarrolla enfermedad vascular periférica, la cual es un factor predisponente para la aparición de úlceras en más del 50% de los pacientes diabéticos y relacionada en la evolución a amputación en un 90%. La respuesta inflamatoria prolongada en la microcirculación, engrosa la membrana basal de los capilares, provocando hialinización arteriolar. Las paredes inelásticas de los capilares explican la capacidad limitada a vasodilatación en respuesta a lesión local, ocasionando isquemia funcional. La infección aumenta el riesgo de amputación por alteración en el aporte/ demanda presente en la vasculopatía.

3. Citocinas inflamatorias y susceptibilidad a infecciones.

Al formarse la ulcera hay un aumento en la susceptibilidad a infecciones debido a una pérdida en la función de barrera innata. En úlceras crónicas, estos microorganismos crecen en comunidades formando biofilms, que aumentan la resistencia a los ataques químicos, inmunológicos y antimicrobianos.

La diabetes por si sola altera la función leucocitaria e inmune, disminuyendo la resistencia del hospedero y haciéndolo mas susceptibles a un aumento en la carga bacteriana superficial en la base de la herida.

Se ha reportado que un factor asociado en la curación lenta de heridas en diabéticos es la actividad intensa y persistente de metaloproteinasas y una disminución en los inhibidores de metaloproteinasas. Así mismo la isquemia y la enfermedad vascular disminuyen la capacidad de curación por disminución en el aporte de oxígeno y nutrientes, disminución en las funciones granulocíticas, de quimiotaxis y macrófagos, aumento en la inflamación y desregulación de la fase de neovascularización por cambios en VEGF y PDGF, alteraciones en el óxido nítrico, acumulación de colágeno, migración anormal y proliferación de fibroblastos y queratinocito, con la acumulación de componentes en la matriz extracelular y su remodelamiento por metaloproteinasas.

CUADRO CLÍNICO

La evaluación integral del paciente diabético requiere, historia clínica completa, uso de medicamentos actuales, comorbilidades, historia heridas previas y síntomas de neuropatía o vasculopatía. Cuadro 5.

Cuadro 5. Componentes en la evaluación de Pie Diabético

Inspección	Dermatológica: Evaluación de la piel: Color, grosor, hidratación, fisuras, sudoración. Infección: secreción u olor Uñas: onicocriptosis y onicomycosis Úlceras: tamaño, profundidad, localización, coloración, exudado, bordes Musculoesquelético: Deformidad: Articulación de Charcot, cabezas prominentes de metatarsianos, dedos en garra, atrofia muscular Invasión ósea
Evaluación Neurológica	Monofilamento 10g: Semmes- Weinstein - 10 puntos. La ausencia de sensación en 3 a 4 puntos es consistente con pérdida de la sensación protectora. Diapasón de 128Hz Reflejos osteotendinosos
Evaluación vascular	Pulsos periféricos: femoral, poplíteo y pedio. Índice brazo tobillo. Medición transcutánea de oxígeno Llenado capilar

Se deben documentar las características iniciales de la úlcera como base para tratamiento y monitoreo de la respuesta posterior a intervenciones.⁴⁵

Recientemente se ha desarrollado una prueba a cual ayuda a prevenir la ulceración y disminuir el riesgo de amputación, denominada "Screening for the high risk diabetic foot: A 60 Second Tool " la cual evalúa la historia de úlcera

previa o amputación; la presencia de deformidad y pulsos arteriales (pedio y tibial posterior); las lesiones del pie como úlceras activas, onicocriptosis, tilosis, ampollas o fisuras y por último la neuropatía medida con monofilamento.⁴⁶ La identificación de estos factores es un componente esencial para el cuidado del pie del diabético, además la valoración multidisciplinaria reduce la tasa de amputación un 40 a 85%.

La neuropatía, la enfermedad arterial periférica, el antecedente de úlcera o amputación, son los factores de riesgo mas importantes para el desarrollo de una nueva úlcera. De acuerdo a la International Working Group on the Diabetic Foot risk categorization tool, se puede predecir la incidencia de amputación o ulceración de acuerdo al grado de neuropatía.⁴⁷ Ver Cuadro 6

Cuadro 6. Predicción de riesgo de amputación de acuerdo “International Working Group on the Diabetic Foot risk categorization tool”

Categoría	Factor de riesgo	Incidencia de úlcera	Incidencia de amputación	Prevención y tratamiento
0	Sin neuropatía sensorial	2 a 6%	0	Reevaluación anual
1	Neuropatía sensorial	6 a 9%	0	Revisión cada 6 meses. Uso de zapatos y plantillas adecuadas
2	Neuropatía sensorial y deformidad del pie o enfermedad arterial vascular	8 a 17%	1 a 3%	Evaluación cada 2 a 3 meses, Uso de zapatos y plantillas adecuadas Educación del paciente
3	Úlcera o amputación previa	26 a 78%	10 a 18%	Evaluación cada 2 a 3 meses, Uso de zapatos y plantillas adecuadas Educación del paciente

El aumento en la presión plantar por la neuropatía es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de UDP, sin embargo existen otros mecanismos de lesión que están importantemente implicados como trauma repetitivo, deambulación excesiva, calzado inadecuado y caminata con pies descalzos que al final, lograrán el desarrollo de tilosis y ampollas por fricción que conlleva a la aparición de la úlcera. La localización de úlceras mas frecuente se ilustra en la Imagen 1.

Imagen 1. Sitios mas comunes de aparición de úlceras de pie diabético.



NEUROPATÍA

La pérdida de sensibilidad protectora se evalúa con la prueba de Diapasón de 128 –Hz y la prueba de Semmes- Winstein en 10 puntos plantares; la ausencia de sensación en 3 a 4 puntos, es consistente con pérdida en la sensación protectora.⁴⁸

El dolor neuropático descrito como urente, punzante, hiperestésico o con alodinia, afecta la calidad de vida del paciente, representando la parte sensorial de la neuropatía diabética.

Pérdida de reflejos, piel seca y deformidad de pie representan la parte autonómica de la neuropatía diabética

VASCULOPATÍA

La enfermedad vascular se mide clínicamente palpando los pulsos (pedio y tibial posterior), los pulsos palpables indican normalmente una presión de al menos 80 mmHg, sin embargo en pacientes diabéticos no excluye mal perfusión por la arterioloesclerosis, por lo que a pesar de que la toma índice tobillo brazo puede tener falsos negativos, es el gold standard para evaluar la vasculopatía.⁴⁸ Ver Cuadro 7

Cuadro 7. Índice Tobillo Brazo

< 40	Indica enfermedad arterial periférica severa
0.41 a 0.9	Indica enfermedad arterial periférica leve a moderada
0.91 a 1.3	Indica ausencia de enfermedad arterial periférica (normal)
>1.3	Indica la presencia de vasos calcificados y la necesidad de otros estudios vasculares.

Existen otros métodos diagnósticos para evaluar la enfermedad arterial periférica como la medición de oxígeno transcutáneo que representa el aporte de oxígeno a la macro y microvasculatura; el USG Doppler color, angiografía. En el USG Doppler normalmente existe un patrón trifásico; un flujo anterógrado en sístole, seguido de un flujo retrógrado y posteriormente un flujo corto anterógrado en diástole. En pacientes diabéticos hay un aumento en el flujo anterógrado con ausencia del retrogrado, reflejando shunts arteriovenosos y arterias dilatadas e induradas.⁴⁹ Por otra parte existen signos clínicos que nos hablan de una mala perfusión como la palidez, hipotermia, alopecia y atrofia.⁵⁰

Conociendo lo anterior, las UPD pueden clasificarse en neuropática, isquémica o neuroisquémica. Cuadro 8.

Cuadro 8. Comparación de los tres grupos de úlceras de acuerdo a su etiología

Característica	Neuropática	Isquémica	Neuroisquémica
Sensación	Perdida de sensibilidad	Dolor	Ligera pérdida de sensibilidad
Tipo de dolor	Ardoroso, punzante, urente	Nocioceptivo y claudicación	Combinado
Tilosis/ Necrosis	Tilosis	Necrosis	Mínima tilosis, predomina la necrosis
Deformidad ósea	+++	-	++
Lecho de herida	Rosa con granulación rodeada de queratosis	Pálida con poca granulación	Poca granulación
Temperatura y pulsos	Cálido con pulsos normales	Fría con pulsos ausentes	Fría con pulsos ausentes

Característica	Neuropática	Isquémica	Neuroisquémica
Otros	Piel seca y fisurada	Retraso en curación	Aumento en riesgo de infección
Localización típica	Áreas de presión del pie, en cabezas metatarsianas, plantar	Puntas de dedos, lechos ungueales y entre los dedos o caras laterales del pie	Margen de dedos y pie
Prevalencia	35%	15%	50%

El pie de Charcot es una complicación tardía de una neuropatía motora de cualquier etiología; esta causado por trauma repetitivo a huesos y articulaciones insensibles del pie, ocasionando dislocación y deformidad. Se presenta con eritema, edema, deformidad, aumento en la temperatura y ulceración, que se puede confirmar con los hallazgos radiográficos de osteopatía crónica, destrucción ósea y formación de hueso nuevo en el periostio. El proceso de curación dura 6 a 9 meses, durante el cual se debe inmovilizar parcialmente y liberar presión en el pie.⁵¹

INFECCIÓN DE PIE DIABÉTICO

La infección se define como la entidad que ocurre cuando organismos virulentos invaden el cuerpo, activan las defensas del hospedero y provocan un daño tisular local. Las infecciones de pie diabético son la compilación mas común y desastrosa de la diabetes mellitus. La presencia de infección en UPD aumentan el riesgo de amputación en un 50 %. Todas las infecciones inician como una pequeña lesión en la piel que posteriormente involucra tejidos profundos si no es tratada.⁵²

La anatomía y la estructura compartamental del pie, favorece que la infección se propague mas fácilmente, los espacios plantares profundos se dividen en medial, central y lateral. De acuerdo a la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA) las infecciones de pie diabético se dividen en leve, moderadas y severas, dependiendo de la extensión y se identifican por la presencia de eritema, edema, dolor y secreción purulenta.⁵³

Existen factores importantes para el desarrollo de una infección como la carga microbiana, la diversidad de microorganismos y la sinergia entre especies, la infección ocurre cuando hay una carga bacteriana mayor de 10^5 microorganismos por gramo de tejido. En las UPD los microorganismos mas frecuentemente asociados al desarrollo de infección son *Staphylococcus*, *Streptococcus*, Proteobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo las úlceras con isquemia y que son profundas tienen mayor cantidad de crecimiento de microorganismos anaeróbicos.⁵⁴

Los patógenos mas comunes en UPD agudas no tratadas son aerobios grampositivos, particularmente *Staphylococcus aureus* y *Streptococci beta hemolíticos*. En UPD crónicas, profundas o previamente tratadas, predominan aerobios grampositivos, gramnegativos (e.j. *E. Coli*, especies de *Proteus* y *Klebsiella*) y anaerobios (ej. *Bacterioides*, *Clostridium*, *Peptococcus* y *Peptoestreptococcus*), estos últimos predominando en pacientes con isquemia o gangrena. El *S. aureus* metilino- resistente (MRSA) es el patógeno mas común en pacientes previamente hospitalizados o con antibioticoterapia reciente.^{55,56}

Lo mas importante es detectar la infección, basado clínicamente en la presencia de exudado purulento, signos clásicos de inflamación (eritema, dolor, edema, hipertermia o induración), otros signos sugestivos como el olor, necrosis o una cicatrización tórpida de la herida. Sin embargo en pacientes diabéticos estos criterios no son la ley debido a que desarrollan menos respuesta inflamatoria, menor eritema por vasculopatía, menor dolor por la neuropatía, e incluso podría confundirse con el pie de Charcot agudo, por lo que la presencia de estos signos indica una infección severa y profunda.⁵⁷

Es de vital importancia la determinación de la extensión y severidad de la infección de pie diabético para establecer medidas terapéuticas específicas.

(Cuadro 9)

Cuadro 9. Clasificación clínica de Infección de Pie Diabético (severidad) ⁵⁸

No infectada	Herida sin exudado purulento u otra manifestación de inflamación (eritema, dolor, edema, hipertermia o induración)
Leve	Presencia de exudado purulento y/o dos o mas manifestaciones de inflamación pero sin celulitis o eritema perilesional <2cm. La infección esta limitada a la piel o tejido subcutáneo superficial, no hay otras complicaciones locales o enfermedad sistémica
Moderada	Infección (exudado purulento y/o dos o mas manifestaciones de inflamación) en un paciente sin compromiso sistémico o metabólico, pero que tiene al menos uno de los siguientes: celulitis extendida a mas de 2 cm de la ulcera, compromiso linfático, diseminación en la fascia superficial, absceso en tejidos profundos, gangrena e involucro de musculo, tendón, articulación o hueso.
Severa	Infección en un paciente con toxicidad sistémica e inestabilidad metabólica (fiebre, escalofrío, taquicardia, hipotensión, vómito, leucocitosis, acidosis, hiperglucemia severa y azoemia)

La presencia de osteomielitis empeora el pronóstico en estos pacientes por lo que es imprescindible realizar una valoración encaminada a su diagnóstico.

Existen factores de riesgo establecidos para osteomielitis en pacientes con UPD.

Cuadro 10.

Los estudios de gabinete para el diagnóstico de osteomielitis en estos pacientes son:⁵⁹

1. Radiografías: Lateral, anteroposterior y oblicua. Se deben repetir en intervalos de dos semanas si no hay remisión en la infección de la úlcera. Tiene una sensibilidad de 43 a 75% y especificidad de 65 a 83%

2. Resonancia Magnética. Es útil para determinar la extensión de la infección, se debe considerar en pacientes en donde no hay exposición ósea que no tienen mejoría en la úlcera con un tratamiento adecuado o cuando los resultados de la radiografía son inconclusos. Tiene una sensibilidad de 82 a 100 % y especificidad de 74 a 96%.

3. Gammagrafía ósea con tecnecio 99. Tiene alta sensibilidad para diferenciar osteomielitis de celulitis, pero disminuye en pacientes con pie de Charcot. Tiene una sensibilidad del 69 al 100% y especificidad de 38 a 82%.

4. Tomografía computarizada: No se usa regularmente para diagnóstico de osteomielitis. Tiene una sensibilidad del 24 a 67% y especificidad de 50%

Otro estudio básico para el diagnóstico es el cultivo de herida el cual se debe realizar posterior a la desbridación, se pueden tomar muestras de tejidos blandos infectados, de secreción y de tejido óseo para posteriormente realizar tinción de Gram, cultivos aerobios y anaerobios.⁵⁸

Cuadro 10. Factores de riesgo para Osteomielitis en pacientes con UPD.⁵⁹

Apariencia edematizada, dedo eritematoso rojo
Hueso visible o palpable
Úlcera infectada con VSG > 70 mm/hr
Úlcera sin cicatrización después de dos semanas de tratamiento con cuidados apropiados y liberación de carga
Evidencia radiológica de destrucción ósea bajo la úlcera
Úlcera mayor de 2 cm ² o mas de 3 mm de profundidad
Úlceración presente en prominencias óseas mas de dos semanas
Úlcera con leucocitosis inexplicable

CLASIFICACIÓN DE ÚLCERAS DE PIE DIABÉTICO

Existen múltiples escalas para la clasificación de úlceras de pie diabético, las cuales ayudan para monitorización de tratamiento y predicción del pronóstico.^{60,61} A continuación se enumeran las más utilizadas. Cuadro 11 a 13

Cuadro 11. Clasificación de Wagner – Meggit

Grado	Lesión
0	Sin lesión o celulitis
1	Úlcera superficial
2	Úlcera profunda sin invasión a tendones o articulación
3	Úlcera profunda con absceso, osteomielitis y artritis séptica
4	Gangrena local
5	Gangrena total

Cuadro 12. Clasificación de Universidad de Texas

Estadio	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
A	Curación pre o post ulcerativa completamente epitelizada	Herida superficial sin involucro óseo	Herida penetrante a tendón y cápsula	Herida penetrante a hueso y articulación
B	Con infección			
C	Con isquemia			
D	Con isquemia e infección			

Cuadro 13. Comparación de Clasificaciones de Úlceras de pie diabético

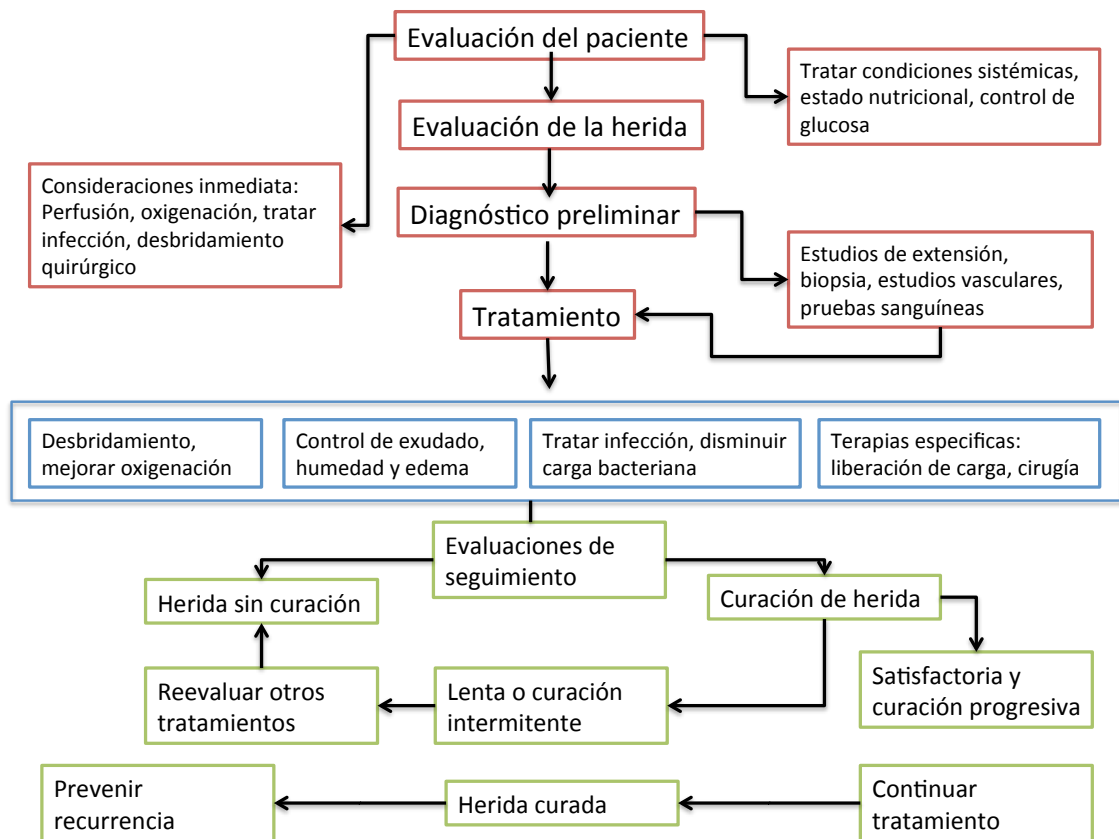
Clasificación	Puntos clave	Pros/ contras
Meggitt - Wagner	Evalúa la profundidad de la úlcera, presencia de gangrena y pérdida de perfusión usando seis grados (0-6)	Bien establecida No evalúa por completo datos de infección e isquemia
Universidad de Texas	Evalúa profundidad, presencia de infección y signos de isquemia, usando 4 grados combinado con 4 estadios (0 a III)	Bien establecida Describe mejor la presencia de infección e isquemia que la de Wagner Predice el pronóstico
PEDIS (perfusion, extent, depth, infection and sensation)	Evalúa perfusión, extensión, profundidad, infección y sensación usando 4 grados	Desarrollada por IWGDF, es mas sencilla de aplicar
SINBAD	Evalúa sitio, isquemia, neuropatía, infección bacteriana y profundidad	Versión simplificada de la clasificación de SAD Incluye el sitio el cual es importante para el pronostico

DIAGNÓSTICO

ABORDAJE DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICO

Para iniciar el tratamiento del pie diabético, es importante tomar en cuenta aspectos básicos. Se debe realizar una historia clínica completa así como la exploración física para evaluar el terreno en el que nos encontramos. Figura 2.

Figura 2. Algoritmo diagnóstico y terapéutico de úlceras de pie diabético.



1. Valoración de la herida

a. Localización: plantar, dorsal, medial, lateral, talón y dedos.

- b. Tamaño: medir el ancho y el largo mayor, expresados en milímetros o centímetros; se puede utilizar planimetría o medición fotográfica computarizada.
- c. Profundidad: medida en milímetros o centímetros y checar la presencia o no de tendones.
- d. Apariencia: evaluar la presencia de diferentes estructuras como tejido de granulación, fibrina, esfacelo o tejido necrótico, islas de epitelio y otras como hueso o tendones, las cuales se expresan en forma de porcentajes, dando una suma de 100%
- e. Exudado: medir la cantidad (seco, leve, moderado o severo) y las características (seroso, sanguíneo, purulento o combinado)
- f. Piel perilesional: bordes adheridos o socavados, así como la presencia de callo hiperqueratósico, maceración o eritema.
- g. Dolor: tipo de dolor (neuropático o nociceptivo) e intensidad.
- h. Temperatura: la diferencia de temperatura > 3 a 4 ° con respecto a la extremidad contralateral, aumentan la sospecha de infección.⁶²

2. Estudios de laboratorio.

Ante la sospecha de úlcera de pie diabético, los estudios iniciales a realizar son la biometría hemática, química sanguínea, tasa de sedimentación eritrocitaria (VSE), proteína C reactiva (PCR) y hemoglobina glucosilada (HbA1c).⁶³

Esto es importante ya que la anemia retrasa la curación, la leucocitosis esta asociada con infección, niveles altos de creatinina (insuficiencia renal) indica mayor riesgo de complicaciones de UPD y alteran la elección y dosis del

antibiótico. Una VSE >40mm/ hr y una PCR > 20 mm/hr están asociadas a infección de tejidos profundos u osteomielitis.⁵⁹ La HbA1c elevada esta asociada con comorbilidades diabéticas y es predictor para el desarrollo de UPD, ya que cada 1% elevado correlaciona con un aumento del 25 a 28% en el riesgo relativo para la enfermedad arterial periférica (EAP).⁶⁴

3. Evaluación vascular

Medidas no invasivas: Índice tobillo brazo (ITB), índice pie brazo (IPB), presión del pie (PP), presión de oxígeno transcutáneo y ultrasonido Doppler.

Invasivas: Angiografía, AngioTAC, AngioRM

4. Imágen

Una radiografía inicial es útil para valorar la presencia de cuerpos extraños, gas en tejido celular subcutáneo, anomalías óseas asociadas a osteomielitis (erosión cortical, reacción periosteal y esclerosis), hallazgos traumáticos, fracturas antiguas, entre otras.

La resonancia magnética es la el método disponible mas certero para el diagnóstico o exclusión de osteomielitis con una sensibilidad del 90% y especificidad del 79%, sin embargo cuando es inconcluso, se puede hacer una biopsia de hueso para el estudio histológico y cultivo bacteriano.⁵⁹

5. Evaluación musculoesquelética

La neuropatía ocasiona atrofia muscular y alteraciones biomecánicas compensatorias, las cuales deben ser evaluadas para prevenir daños adicionales a la estructura ósea, prevenir la aparición de úlceras y la

amputación. Esta evaluación es importante para poder diseñar dispositivos que liberen la presión en ciertas áreas del pie.

6. Control de infección

Inicialmente debe establecerse la extensión y severidad de la infección así como obtener cultivos para determinar el agente infeccioso y establecer el tratamiento específico. El control de infección va dirigido a disminuir la carga, colonización e infección bacteriana. Se debe hacer una desbridación cuidadosa con material estéril e identificar tractos fistulosos, abscesos e involucro óseo o tendinoso.⁶⁴

TRATAMIENTO

El tratamiento se basa en eliminar la infección, uso de cubiertas para mantener la herida hidratada, absorber el exudado, disminuir la presión en el lecho de la ulcera y desbridación para acelerar la curación endógena y facilitar la efectividad de las sustancias aplicadas de manera tópica. Sin embargo en algunos casos resistentes al tratamiento convencional, se utilizan terapias de reemplazo de piel con trasplante de piel o en equivalentes cutáneos realizados en laboratorio como segunda línea para prevenir amputación.⁶⁵

El tratamiento estándar de úlceras de pie diabético consiste en un equipo multidisciplinario que incluya médicos, fisioterapeutas, ortopedistas, entre otros. Inicialmente se debe buscar la optimización en el control glicémico, realizar desbridación extensiva, eliminar la infección existente, usar apósitos hidratantes y disminuir la presión en lecho de herida, buscar datos de vasculopatía y en caso de ser importante, se debe revascularizar, ya que es esencial en la curación de la herida.

DESBRIDAMIENTO.

En el desbridamiento se debe remover tejido necrótico desvitalizado y eliminación de bordes hipertróficos que impidan la curación. Existen diversas modalidades de desbridación, la mas utilizada en estos casos es la quirúrgica.

CONTROL DE EXUDADO Y HUMEDAD.

La protección ideal es aportar humectación, proteger de infecciones, remover de exudado excesivo y promover la regeneración. Se escoge dependiendo del tipo y estadio de la herida así como de la extensión y situación tisular

CONTROL DE INFECCIÓN.

La severidad de la infección determina el régimen antibiótico apropiado y la vía de administración.

El tratamiento efectivo para infecciones de pie diabético requiere terapia antibiótica, desbridación quirúrgica, cuidados de herida y corrección de anomalías metabólicas.

El antibiótico empírico esta basado en la severidad de la infección, historia de tratamiento antibiótico reciente, infección previa con microorganismos resistentes, resultado de cultivos, tinción de Gram y antecedentes alérgicos. Debe incluir un agente activo contra S. aureus, incluido MRSA, estreptococos y anaerobios en caso de tejido necrótico. Se debe reevaluar al paciente cada 24 a 72 hrs después del tratamiento empírico para evaluar la respuesta y hacer los cambios pertinentes.⁶⁶

TERAPIAS ADYUVANTES Y CIRUGÍA.

En esta revisión nos enfocaremos en los materiales de polímeros modificados y en equivalentes cutáneos biológicos.

Cubiertas de heridas para el tratamiento de pie diabético.

Inicialmente se formularon solo como protección, sin embargo con el tiempo se han utilizado para proveer humectación, favorecer el intercambio gaseoso, drenaje y debridamiento autolítico; son fabricados con biocompatibilidad, para evitar reacción alérgica o inmunológica.

De acuerdo a la fase de cicatrización en la que se encuentra la úlcera, se necesitan diferentes tipos de apósitos, sin embargo un metaanálisis reciente demostró que no hay diferencias significativas entre los diferentes apósitos para proveer humectación.⁶⁷

Se clasifican en:

1. Hidrocoloides. Son apósitos que proveen hidratación, están constituidos por un material de forro (semipermeable, espumas o fibras de poliéster) y una capa de partículas hidrofílicas/coloidales que contienen geles biocompatibles de proteínas (colágena) o polisacáridos (celulosa) que en contacto con el exudado, absorben líquido.

Son semipermeables al agua y oxígeno, sin embargo en heridas infectadas favorece ambiente hipóxico e hiperhidratación que favorece autólisis de tejido necrótico y mayor infección. Se usa para granular y epitelizar, así como desbridar heridas necróticas, se usan por 48 a 72 horas de acuerdo a la cantidad de exudado que puedan retener.

2. Hidrogeles. Ayudan a mantener la herida hidratada. Están constituidos por polímeros hidratados que absorben 20% de su peso en agua. Favorecen el desbridamiento de tejido necrótico y ayudan a secar heridas con poco exudado ayudando en la curación; la ventaja es que se pueden cambiar sin

daño en el lecho de la herida, son flexibles, no antigénicos y permeables al agua, oxígeno y metabolitos.

3. Espumas. Son una alternativa a hidrocoloides para heridas con exudado moderado a alto, tiene capacidad de absorber líquidos dependiendo del material polimérico y del grosor aplicado, son altamente absorbentes, protectores, amortiguadores, de fácil manipulación, se puede aplicar por más de 7 días.
4. Películas. Son transparentes, durables, confortables, fáciles de manipular, adhesivas, baratas semipermeables a oxígeno y vapor de agua, impermeable a líquidos y contaminación bacteriana. Se usan solo en heridas con poco exudados, duran 4 a 5 días, se pueden usar en asociación con otros para mejorar la adhesión.
5. Poliméricos. Constituyen cubiertas activas usadas para heridas crónicas, mantener humedad y favorecer curación; y pasivas usadas para heridas agudas, absorbe exudado y protegen. Se pueden agregar medicamentos u otras sustancias para acelerarla curación.
 - a) Naturales. obtenido de microbios, animales o vegetales, estimulan el ambiente celular original con degradación controlada, sin embargo tiene limitación de ser de grupos heterogéneos, alto costo y el riesgo de transmisión de infecciones.
 - Quitina y quitosán. Es el polisacárido más abundante en la naturaleza, se transforma en quitosán por desacetilación termoquímica formando películas de geles, aumenta la coagulación y acelera la curación de

heridas, mejora la función inflamatoria de polimorfonucleares, macrófagos, neutrófilos, favoreciendo la granulación; estimula la proliferación de fibroblastos, angiogénesis, síntesis y deposición regular de fibras de colágeno mejorando la cicatrización.

- Glucosaminoglucanos y ácido hialurónico. Es un polisacárido natural, un GAG no sulfatado, componente más importante de matriz extracelular. No es alergénico, es biocompatible, contiene propiedades viscoelásticas. Ayuda a retener líquidos, promueve la migración de células epiteliales con aumento del depósito de colágeno y angiogénesis. En UPD se usa en espumas o geles con o sin otras sustancias bioactivas.
- Celulosa. Se encuentra en las paredes de las células de plantas, es un polímero orgánico, de bajo costo tiene una estructura cohesiva que provee gran estabilidad, rigidez y fuerza tensil; es insoluble al agua y biocompatible. Su efecto en heridas es por la liberación de factores de crecimiento como PDGF, EGF y favorece la hidratación.
- Alginatos. Es el más estudiado, proviene de algas marinas *Laminaria hyperborean*. Forma hidrogeles reversibles con la unión de cationes como calcio, magnesio, bario y manganeso. Es biocompatible, tiene baja toxicidad, es mucoadherente, sin embargo presenta una degradación impredecible e incontrolable, por lo que se combina con otros biopolímeros. Los que están combinados con calcio son absorbentes, desbridantes y aceleran curación en DFU.

- Colágena. Representa el 25% del peso corporal total, provee fuerza, integridad e interactúa con células provocando la señalización para la migración, proliferación, y diferenciación celular.
- Fibrina. Producida por fibrinógeno, puede ser funcionar como base polimérica de moléculas bioactivas o células en otras aplicaciones, contiene dominios específicos para favorecer la adhesión celular que ayuda a la proliferación celular, por lo que es ampliamente usada en ingeniería tisular.
- Dextrán. Obtenido de cadenas bacterianas por las dextransucrasa, es hidrofílico, soluble en agua, biodegradable y biocompatible; resiste absorción y no afecta la viabilidad celular. Es una buena opción para la aplicación de otros medicamentos para piel, hueso y tejido celular subcutáneo. Favorece angiogenesis, ayuda a limpiar la herida absorbiendo el exudado, productos de degradación bacteriana, prostaglandinas, bacterias y otros contaminantes, reduciendo la inflamación y mejorando la curaciónn

b) Sintéticos. Sobrepasan los problemas de los naturales ya que se producen de manera controlada, con materiales homogéneos reproducibles, se degradan por hidrólisis química.

- Polivinil alcohol: Es hidrofílico, funciona como base de otros apósitos medicados o biológicos; absorbe agua, forma partículas, esponjas y películas, tiene resistencia enzimática, permeable al oxígeno. Tienen poca estabilidad térmica, no se usan a largo plazo.

- Polietilenglicol. Es hidrofílico, biocompatible, flexible, no inmunogénico. El uso en pacientes diabéticos promueve la proliferación de células cutáneas, el depósito de colágena y reduce la formación de cicatriz favoreciendo una mejor reepitelización.
- Polivinil pirolidoma. Material hidrofílico y biocompatible, absorbe agua y es permeable al oxígeno. Son de bajo costo
- Otros: poliuretanos, polihidroximetil metacrilato, polialfa-ésteres. Acido poliglicólico, poliláctico

Terapias adyuvantes ⁷¹

1. Trasplante autólogo de piel: Injertos y colgajos son los más usados, el colgajo es una porción de piel seccionada y profundizada, conservando un pedículo, que se aísla periféricamente. El injerto es una sección de piel de espesor variable que se desprende completamente del sitio original para cubrir otra zona. Recientemente se han cubierto grandes defectos con múltiples microinjertos. El éxito de este proceso depende de la aceptación del injerto, la cual se refiere a la adhesión de la piel injertada con el sitio receptor, y vascularización subsecuente, ocurriendo en promedio en las 24 a 48 hrs posteriores a la colocación de la dermis, con el fin de producir tejido de granulación. Se debe realizar una revisión sistematizada que consiste en evaluar que no presente datos de infección o exudado excesivo, así mismo, se debe evitar la presión excesiva en área injertada.

2. Equivalentes cutáneos de ingeniería en tejidos. Los primeros usados fueron los productos de la matriz extracelular, glucosaminoglucanos y colágeno, La segunda generación consiste en productos basados en células, generalmente queratinocitos. El Dermagraft es un sustituto dérmico derivado de fibroblastos crioprecipitados que se han utilizado en úlceras de pie diabético, así mismo el Apligraf es un equivalente cutáneo humano basado en cultivo de dermis y epidermis de frente de neonatos que mejora la curación de estas heridas.^{68,69}
3. Células derivadas de médula ósea. Usadas por su potencial en diferenciación a diferentes tipos celulares. En la diabetes hay alteración en la movilización de células progenitoras endoteliales de la médula ósea y disminución de estas en heridas. Existe un estudio con aplicación de células derivadas de medula ósea autólogo, en pacientes diabéticos, encontrándose el cierre completo en pacientes sin respuesta a otras terapias.⁷⁰
4. Oxígeno hiperbárico, recluta pero no mejora la migración de células progenitoras endoteliales. Al aumentar la tensión arterial de oxígeno hay mayor aporte de nutrientes; promueve las fases de curación de heridas dependientes de oxígeno para aumentar los factores de crecimiento locales y disminuir las citocinas inhibitorias. Sin embargo no es adecuado todo el tiempo ya que existen fases de curación de heridas que se estimulan con la hipoxia.^{19,71}
5. Mezcla de queratinocitos y células derivadas de medula ósea.

6. Modulación genética de células derivadas de médula ósea para conversión a linaje queratinocítico.⁷²
7. Factores de crecimiento: becaplermina (factor de crecimiento derivado de plaquetas, Regranex) es el único comprobado con estudios aleatorizados, así mismo, se ha reportado riesgo de malignidad.⁴
8. Plasma rico en plaquetas, se ha usado desde 1985, requiere aprobación por la FDA, contiene grandes cantidades de plaquetas, factores de coagulación y factores de crecimiento que favorecen la curación favoreciendo la división celular.⁷²
9. Plata. Se reporta su uso desde 1617 en heridas crónicas, tiene un papel antibiótico de amplio espectro, se utiliza en cremas, cubiertas, como espumas, hidrocoloides, hidrofibras, alginatos, liberando cationes de plata, los cuales alteran los componentes de la pared celular bacteriana, inhibe enzimas respiratorias microbianas y elementos de la cadena de transporte de electrones, actuando en bacterias y hongos, sin embargo el uso indiscriminado favorece citotoxicidad en queratinocitos y fibroblastos, retrasando su cierre.⁴⁵
10. Cubiertas de presión subatmosféricas. VAC (Vacuum Assisted Closure). Mejora flujo sanguíneo, disminuye el edema tisular local y remueve exceso de fluido del lecho de la ulcera, en la aplicación cíclica se activa una cascada de señales intracelulares que aumentan la tasa de división celular y formación de tejido de granulación. En estudios se ha demostrado disminución en el área de la herida y en el tiempo de

curación, no costo efectivo por lo que deberá usarse en situaciones específicas.^{73, 74}

Medicina regenerativa e ingeniería en tejidos.

La dermis provee flexibilidad, elasticidad y apoyo estructural a la piel, así como aporte vascular, drenaje linfático y plexos nerviosos. Se encuentra formada por constituyentes de la matriz extracelular (colágena, elastina y glucosaminoglucanos) y elementos celulares. Las señales moleculares de la matriz extracelular controla la migración celular, proliferación, diferenciación, forma y apoptosis vía integrinas, receptores de proteoglicanos de superficie celular sobre todo en la adherencia rápida y proliferación de fibroblastos.^{75,76}

La colágena es biológicamente activa en tejidos, formada por una estructura fibrilar de triple hélice. 90% de las proteínas dérmicas consisten en colágena siendo el 75% del peso total seco.

La función principal de los fibroblastos en la biosíntesis de colágena y otras proteínas de la matriz extracelular. La tipo I y III son las más frecuentes en dermis y su configuración confiere estabilidad mecánica y elástica a la piel. Los fibroblastos sintetizan moléculas de ECM, factores de crecimiento, citocinas y proteasas que se requieren para el remodelamiento de la cicatriz, con la posterior formación de fibras de actina y cambio en miofibroblastos para la reconstrucción del tejido de granulación y producción de nueva matriz extracelular, contracción y remodelación de herida y tejido cicatrizal. Con la influencia mecánica externa se llevan a cabo toda cascada de curación de heridas que incluye la formación de factores de crecimiento, formación de tejido

de granulación de la matriz extracelular, contracción de herida por miofibroblastos, maduración de base dérmica, apoptosis de miofibroblastos, interacción entre queratinocitos fibroblastos y subsecuente epitelización de la herida.

El progreso en el entendimiento de la biología molecular y en la ingeniería en tejidos han producido mas avances en la tecnología de sustitutos de piel. Sin embargo se encuentran algunos problemas como contracción de herida, formación de cicatriz, poca incorporación del tejido, alteraciones en la revascularización y deficiencias estructurales en el diseño de la matriz.

Estos apósitos necesitan una capa dérmica para la su generación, así como para disminuir la contracción y cicatriz, mejora la elasticidad y estabilidad a largo plazo.⁷⁷ La reepitelización es el resultado de señales entre la dermis y la epidermis posterior a una regeneración dérmica por parte de los componentes de la matriz extracelular.

1. Sustitutos acelulares alogénicos. Son trasplantes alogénicos dérmicos cadavéricos criopreservados, liofilizados y glicerolizados para remover fuentes de infección y materiales antigénicos. El resto del material sirve como cubierta para el crecimiento de fibroblastos del receptor y crecimiento vascular para regenerar la dermis, sin embargo, existe el riesgo de infección por lo que se han producido sustitutos acelulares comerciales.
2. Sustitutos celulares alogénicos.⁷⁸

Los sustitutos de bioingeniería, sustitutos de piel o cultivos autólogos están disponibles para cubrir temporal o permanentemente con la ventaja de producirse en grandes cantidades sin riesgos de infección o inmunológicos. La limitación mas importante es el costo.

- a. Biobrane, nylon con silicona cubierta de polipéptidos porcinos, se usa en quemaduras limpias de espesor medio.
- b. Transcyte, semipermeable con silicona cubierto de nylon y colágeno porcino y fibroblastos de neonatos, mejora el tiempo de curación, inhibe infecciones.
- c. Dermagraft fibroblastos neonatales en una cama de poliglactina, producen colágena dérmica, GAG, factores de crecimiento y fibronectina para apoyar la curación de la herida. Aprobado en 2001 en úlceras de pie diabético de mas de 6 semanas.
- d. Apligraf es una capa epidérmica de queratinocitos y fibroblastos neonatales de la frente de neonatos se usa como adjunto a cubrir un autoinjerto, provee de curación acelerada, o solo en heridas crónicas. Aprobado desde 1998 para úlceras venosas crónicas y en 200 para DFU. es una fuente de macromoléculas y citocinas que promueven la curación. Las desventajas es la poca persistencia de fibroblastos en el hidrogel de colágeno por lo que se ha empleado hidrogeles de colágeno concentrado siendo mas estable por la disminución en la contracción favorece la proliferación celular y protege a fibroblastos de la apoptosis.

- e. Integra, cubierta semibiológica bilaminada con colágena tipo I de bovino, sulfato de condroitina, GAG de tiburón en capa epidérmica de silicona con poros para la migración de células endoteliales y fibroblastos.
3. Aloinjertos compuestos de piel. Lo mas avanzado con piel humana de grosor completo, con andamio de colágeno, fibroblastos cultivados y queratinocitos estratificados, sin apéndices, vasculatura. (Apligraf), sin embargo desaparecen cuando hay repoblación total de células del huésped
 4. Cultivo cutáneo autólogo. Por muchos años, el gold standard del cierre de heridas fue el injerto autólogo, sin embargo en pacientes con extensiones amplias, los sitios donadores son limitados, con mayores complicaciones y alteraciones en la cicatrización. En 1975 Rheinwald y Green describieron una nueva forma de cultivo de queratinocitos con expansión rápida de la muestra de piel con aporte infinito de epidermis dérmica.⁷⁹ Esta técnica se llevo a la práctica en 1980 en un adulto con quemaduras, posteriormente en dos pacientes pediátricos con área corporal quemada del 97 y 98 % desde entonces se han usado en múltiples enfermedades ulcerativas como epidermólisis bulosa, pioderma gangrenoso, úlceras venosas, entre otras; permitiendo cubierta permanente y estimula la curación y reepitelización.^{80,81} El cultivo seriado de queratinocitos y fibroblastos permite la pérdida de expresión de HLA, por lo que la alogenicidad es mínima. Las desventajas es que se pierden al reepitelizar y la apariencia funcional y cosmética es similar al injerto autólogo, son frágiles, susceptibles de lesión y degradación por infección.⁸²

Kashiwa et al, reportó que el cultivo alogénico es útil en promover el tejido de granulación y epitelización por lo que se considera que es útil en las cubiertas de heridas biológicas antes del injerto autólogo. Produce mas tejido de granulación sano, disminuye el tejido necrótico en las úlceras disminuyendo el tamaño de la herida.⁸³

Fibroblastos cultivados. Sistema de reparación

Previamente utilizados en ríptides, cicatrices deprimidas, atrofia subcutánea, acné, etc. Los fibroblastos autólogo cultivados (Isolagen) como proteína de reparación, se obtiene de una biopsia por punch de 3mm, se expande para producir fibroblastos y matriz extracelular (8 semanas). Se han usado desde 1995, inicialmente se trataba como colágeno bovino en 1977, sin embargo 6% desarrollaban problemas de hipersensibilidad, reacción granulomatosa a cuerpo extraño. Se puede utilizar en patologías donde se encuentre una reducción en fibroblastos e integridad en la colágena, e incluso se colocan en nitrógeno liquido para tener una fuente de fibroblastos.⁸⁴

En la ulcera crónica, la herida permanece en la etapa inflamatoria y el proceso agudo se detiene. El sistema de reparación se altera, existen muchos factores que contribuyen al desarrollo de heridas crónicas. En la diabetes las proteínas se modifican por la glucosilación y en muchos tejidos hay alteración en microcirculación con engrosamiento de la membrana basal y en la fibrina. La lesiones en pies diabéticos no presentan los cambios inflamatorios normales y los macrófagos que migran a al ulcera son incapaces de activarse. La vasculopatía ocasiona entrega insuficiente de oxígeno que ocasiona que sea

imposible la curación hasta que haya revascularización. A nivel microvascular hay tendencia a desarrollar engrosamiento de membrana basal que contribuye a la alteración en la difusión de micronutrientes.⁸⁵

Hay un exceso en metaloproteinasas y disminución en sus inhibidores, todo esto contribuye a alteración de factores de crecimiento y componentes de matriz extracelular como fibronectina.

Los fibroblastos producen factores de crecimiento, colágena, proteoglicanos y otras proteínas, en diabéticos hay alteración en la migración y producción de factores de crecimiento endotelial³³

En general se usan de 4 a 17 semanas son inestables, tienen una tasa baja de factores de crecimiento y no liberan matriz extracelular como quimioatrayente, son caros. Los que tienen fibroblastos o queratinocitos tienen mejor respuesta por que mejoran el ambiente de la herida interacción en factores de crecimiento, depósito de matriz y degradación de cubierta con respuesta celular.⁸⁶

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las úlceras de pie diabético son heridas crónicas que tienen impacto importante en la morbilidad, mortalidad y calidad de vida de pacientes quienes las viven. Por ser un padecimiento frecuente, constituye un problema de salud pública. Dependiendo de su extensión y estadio es como se determina el tratamiento y pronóstico. Actualmente el diagnóstico en etapas tempranas es importante para evitar las complicaciones más frecuentes, así como para disminuir costos para el tratamiento. Se han estudiado ampliamente las diferentes opciones terapéuticas, sin embargo es de vital importancia realizar medidas generales e intervenciones básicas que favorezcan un ambiente ideal para la reepitelización.

En cuanto al tratamiento estándar de úlceras de pie diabético se ha estipulado como primera línea, la desbridación y colocación de apósitos hidrocoloides, sin embargo se han realizado múltiples estudios sobre el papel de los fibroblastos en la curación de heridas crónicas, reportando resultados alentadores por lo que nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es la eficacia del uso de apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina en el cierre de la úlcera, comparado con apósitos hidrocoloides, en un periodo de 8 semanas, en pacientes de 40 a 80 años con úlceras de pie diabético vistos en la Clínica de Úlceras del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”?

3. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de úlceras de pie diabético en México es desconocida pues no existen estadísticas adecuadas. Las úlceras de pie diabético son heridas crónicas que tienen impacto importante en la morbilidad, mortalidad y calidad de vida de pacientes quienes las viven por aumento en el riesgo de amputación.

De acuerdo a estas cifras es muy grande la demanda en atención médica por diagnóstico de estos padecimientos y reflejan la gran magnitud e importancia de este problema de salud en la población.

Hasta ahora no existe un tratamiento ideal que disminuya los tiempos de cicatrización y que favorezca la rápida rehabilitación del paciente. La aplicación de constructos de piel artificial ha demostrado ser una excelente herramienta en el tratamiento de úlceras de pie diabético a nivel mundial, sin embargo, su costo es muy elevado debido a que se desarrollan a partir de una matriz de colágena sintética.

El desarrollo de constructos de piel artificial con una matriz de fibrina disminuye el costo del tratamiento sin modificar su eficacia, por lo que ayudaría al costo beneficio en el tratamiento de estas úlceras.

4. HIPÓTESIS

El cierre de las úlceras de pie diabético con la aplicación de un apósito de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina, será al menos del 85% en cambio con los apósitos de hidrocoloides será de al menos 30% aplicados durante 8 semanas en pacientes diabéticos de 40 a 80 años que acuden a la Clínica de Úlceras del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la eficacia y seguridad de un apósito de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina comparado con apósitos hidrocoloides para el tratamiento de úlceras de pie diabético por un periodo de 8 semanas en pacientes de 40 a 80 años que acudan a la Clínica de Úlceras del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”

5.2 Objetivos específicos

- Determinar las características socio demográficas de ambos grupos de estudio
- Cuantificar el tamaño promedio de las úlceras del grupo de estudio y del grupo control antes de iniciar la intervención
- Cuantificar el tamaño promedio de las úlceras del grupo de estudio y del grupo control semanalmente
- Cuantificar la velocidad promedio de la reducción del área de las úlceras en los grupos de intervención
- Cuantificar el dolor de los grupos de intervención, semanalmente

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño del estudio

Ensayo clínico controlado, ciego simple, aleatorizado sobre la eficacia del uso de apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina, comparado con apósitos hidrocoloides, en pacientes con úlceras de pie diabético.

6.2 Definición del Universo del Estudio

Pacientes de 40 a 80 años con diagnóstico de úlcera de pie diabético que acuden a la clínica de úlceras del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”.

6.3 Criterios de Selección

6.3.1 Criterios de Inclusión

1. Pacientes de 40 a 80 años de edad.
2. HbA1c < 7.5
3. Diagnóstico clínico de pie diabético.
4. Índice tobillo brazo ≥ 0.9
5. Evolución mayor a 4 semanas
6. Tamaño de úlcera mayor a 1 cm²
7. Sin tratamiento en el último mes.
8. Pacientes de ambos géneros.
9. Que firmen carta de consentimiento informado.

6.3.2 Criterios de Exclusión

1. índice tobillo-brazo < 0.9
2. Enfermedades colágeno-vasculares, en tratamiento con quimioterapia, inmunosupresores y/o esteroides
3. HbA1c > 7.5

4. Mujeres embarazadas o en lactancia.
5. Pacientes con infección local agregada.
6. Pacientes con tratamiento farmacológico local previo.

6.3.3 Criterios de Interrupción

1. Infección en sitio de aplicación

6.3.4 Criterios de Eliminación

1. No adherencia al protocolo.
2. Efectos colaterales intensos o severos.
3. Patología concomitante que afecte el resultado del ensayo clínico.
4. Embarazo durante el ensayo clínico

6.4 Muestra

De acuerdo a bibliografías de estudios similares a nuestro estudio, se encontró una proporción de cierre con fibroblastos cultivados de 85% en comparación con una proporción de cierre con apósitos hidrocoloides de 30%. Por lo que se calcula una $P_{\text{intervención}}= 0.85$; $P_{\text{control}}=0.30$), asumiendo un error tipo I del 0.05 y error tipo II del 0.2. Bajo este supuesto el número de sujetos por grupo se ha calculado en 9, que se ha aumentado a 11 en previsión de un 20% de pérdidas. Por lo tanto se requiere en total 22 pacientes

$$n = \frac{[Z_{\alpha} * \sqrt{2p(1-p)} + Z_{\beta} * \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)}$$

Donde:

- n = sujetos necesarios en cada una de las muestras
- Z_{α} = Valor Z correspondiente al riesgo deseado
- Z_{β} = Valor Z correspondiente al riesgo deseado
- p_1 = Valor de la proporción en el grupo de referencia, placebo, control o tratamiento habitual.
- p_2 = Valor de la proporción en el grupo del nuevo tratamiento, intervención o técnica.
- p = Media de las dos proporciones p_1 y p_2

$$p = \frac{p_1 + p_2}{2}$$

7. DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala de Medición	Unidad
Edad	Tiempo transcurrido desde su nacimiento hasta la inclusión en el estudio	Se pregunta la edad al paciente	Cuantitativo Razón	Años
Género	Característica sexual	Se basa en el examen físico del paciente	Nominal	Dicotómica: Femenino Masculino
VARIABLES CLINICAS				
Área afectada basal	Se refiere al tamaño de la lesión que presenta el paciente al inicio del estudio	Se mide el largo máximo por el ancho máximo de úlcera al inicio del estudio.	Cuantitativa De razón	Centímetros cuadrados
Tiempo de evolución de úlcera	Tiempo desde que el paciente presenta lesiones clínicas úlceras de pie diabético	Se pregunta al paciente el tiempo desde que presenta la úlcera	Cuantitativa Ordinal	Meses
Tiempo de evolución de Diabetes	Tiempo desde que el paciente tiene el diagnóstico de diabetes Mellitus	Se pregunta al paciente el tiempo desde que tiene el diagnóstico de Diabetes Mellitus	Cuantitativa Ordinal	Meses
HbA1c	Nivel sérico de HbA1c que presenta el paciente	Se solicita química sanguínea	Cuantitativa Ordinal	mmol/mol
Índice tobillo brazo	Cociente entre la presión arterial sistólica maleolar y la presión arterial sistólica en el brazo.	Medición de presión arterial sistólica maleolar y braquial	Cuantitativa Razón	Índice
Topografía	Localización de la úlcera	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Cualitativa Nominal	1: Dorso 2: Maleolo lateral 3: Maleolo medial 4: Planta
Fibrina	Porcentaje de fibrina en el lecho de la úlcera, evaluada inicialmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje
Necrosis	Porcentaje de necrosis en el lecho de la úlcera, evaluada inicialmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje
Tejido de granulación	Porcentaje de tejido de granulación en el lecho de la úlcera,	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje

	evaluada inicialmente			
Islas de epitelio	Porcentaje de islas de en el lecho de la ulcera, evaluada inicialmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje
Exudado	Cantidad de material líquido que drena de la úlcera inicialmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Cualitativa Politómica	1= Herida seca 2= Húmeda o leve (normal) 3= Moderada 4= Severa
Características de exudado	Apariencia de material líquido que drena de la úlcera inicialmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Cualitativa Politómica	1= Sin exudado 2= Seroso a serohemático 3= Seropurulento (pus líquido) 4= Francamente purulento (pus espeso)
Dolor	Percepción sensorial localizada y subjetiva, molesta o desagradable. Inicial	Se utiliza la escala visual análoga al dolor	Cualitativa Politómica	0 a 10
VARIABLES DE ESTUDIO				
Tratamiento usado	Terapéutica empleada para iniciar el estudio	Se evalúa el tratamiento utilizado en cada paciente	Cualitativa Dicotómica	1: Apósitos de fibroblastos 2: Apósitos hidrocoloides
Área semanal	Tamaño de la lesión que presenta el paciente evaluada semanalmente	Se pregunta al paciente cuando apareció la lesión	Cuantitativa De razón	Centímetros cuadrados
Fibrina semanal	Porcentaje de fibrina en el lecho de la ulcera, evaluada semanalmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje
Necrosis semanal	Porcentaje de necrosis en el lecho de la ulcera, evaluada semanalmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje
Tejido de granulación semanal	Porcentaje de tejido de granulación en el lecho de la ulcera, evaluada semanalmente	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje
Islas de epitelio	Porcentaje de islas de en el lecho de la ulcera, evaluada	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Porcentaje	Porcentaje

	semanalmente			
Exudado semanal	Cantidad de material líquido que drena de la	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Cualitativa Politómica	1= Herida seca 2= Húmeda o leve (normal) 3= Moderada 4= Severa
Características de exudado semanal	Apariencia de material líquido que drena de la úlcera	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Cualitativa Politómica	1= Sin exudado 2= Seroso a serohemático 3= Seropurulento (pus líquido) 4= Francamente purulento (pus espeso)
Dolor semanal	Percepción sensorial localizada y subjetiva, molesta o desagradable. Evaluada semanalmente	Se utiliza la escala visual análoga al dolor	Cualitativa Politómica	0 a 10

8. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Una vez comprobado que los pacientes cumplen con los criterios de inclusión y han firmado e consentimiento informado, el paciente es asignado al grupo experimental o al grupo control de acuerdo a la disposición del tratamiento.

Intervenciones

- Apósito experimental: apósito de cultivo de fibroblastos sobre andamio de matriz de fibrina aplicado semanalmente.
- Apósito control: apósitos hidrocoloides, aplicados semanalmente

En caso de pacientes incluidos en el grupo de Apósito biológico se siguió el siguiente procedimiento:

1. Sacar el constructo cutáneo del tubo de la siguiente manera:
2. Romper la cinta de "*Parafilm*" que está adherido al tapón del tubo.
3. Girar el tapón del tubo.
4. Utilizar unas pinzas estériles, de preferencia sin dientes, para extraer el constructo cutáneo.
5. Una vez que el constructo cutáneo es retirado del tubo, con cuidado hay que desdoblarlo sobre la mano cubierta con un guante estéril.
6. Notar que el constructo cutáneo viene adherido a un "*tul*" mediante un pegamento orgánico de color azul. El constructo cutáneo está en la parte inferior cuando del lado derecho y lejos del observador hay un corte en una esquina del tul.

7. No intente separar el “tul” del constructo cutáneo porque éste se destruirá.
El tul esta estéril y viene junto con el constructo para facilitar el manejo del constructo.
8. Colocar el constructo cutáneo sobre el lecho de la úlcera.

En caso de ser paciente incluido en el grupo de apósito hidrocoloide llevar a cabo el siguiente procedimiento:

1. De forma estéril sacar el apósito de su envoltura.
2. Cortar el apósito del tamaño de la úlcera.
3. Retirar el plástico que cubre el área de aplicación del apósito.
4. Colocar apósito sobre el lecho de la úlcera.

En ambos casos se aplican gasas y vendaje compresivo con vendas de algodón 10 cm colocada desde la punta de los dedos a la rodilla.

En los pacientes con apósitos de fibroblastos se indicará mantener el área ocluida durante 5 días, únicamente con cambio de gasas en caso necesario y vendaje compresivo.

En caso de ser paciente de parche hidrocoloide se capacitará para el aseo con agua y retiro del apósito en el sitio de la úlcera a las 48 hrs, con posterior aplicación de gasas y vendaje.

En ambos casos se dará cita para evaluación semanal.

A todos los pacientes se les solicitó interconsulta al servicio de Rehabilitación para evaluación y aplicación de medidas para liberar la presión en el pie, así como instrucción al paciente para evitar pesos excesivos en el pie afectado.

Seguimiento de los sujetos

El seguimiento duró 8 semanas y se realizó evaluación semanal y final

Para evaluación semanal se hizo el siguiente procedimiento.

1. Retiro del vendaje
2. Retiro de las gasas previo uso de agua limpia o solución fisiológica para desprenderlas.
3. Lavado de la herida sin tallar solo con agua o solución fisiológica.
4. Toma de fotografía.
5. Medición del largo, ancho como se describió previamente
6. Llenado de las formas de evaluación semanal.
7. Aplicación del tratamiento asignado.
8. Cobertura con gasas de la zona ulcerada
9. Vendaje compresivo

La evaluación final se realizó a las 8 semanas. Antes de dar de alta a los pacientes se llevarán a cabo los siguientes procedimientos:

1. Limpieza de la herida previamente descrita
2. Medición del largo y ancho como se describió anteriormente
3. Toma de fotografía
4. Llenado de la última forma de reporte de caso.
5. Se revisará que todo el expediente esté completo y lleno
6. Plan de análisis estadístico: Se usó SPSS v21, se calcularon proporciones, porcentajes, media, desviación estándar, pruebas de significancia estadística.

9. ASPECTOS ÉTICOS

Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud. Aspectos éticos de la investigación en humanos: estudio experimental con riesgo mínimo

A cada paciente se le explicará el objetivo del cuestionario y se ofrecerá participar en el protocolo de estudio, a los pacientes que decidan ser parte del mismo se les proporcionará una carta de consentimiento informado donde firman de total acuerdo, con 2 testigos. A los grupos caso se les aplicó el apósito de fibroblastos sobre matriz de fibrina y al grupo control apósitos hidrocoloides, de manera semanal.

10. RECURSOS

10.1. Humanos

- Dra. Fabiola Jiménez Hernández. Dermatóloga y Dermatooncóloga. Jefa de la Clínica de Úlceras del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua.
- Dr. Andrés Eliú Castell Rodríguez. Médico Cirujano, Maestro y Doctor en Ciencias. Jefe del Laboratorio de Inmunoterapia Experimental de la Facultad de Medicina. UNAM.
- Dra. Martha Alejandra Morales Sánchez. Dermatóloga y Dermatooncóloga y Jefe de Enseñanza del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua.
- Sara Judith Álvarez Pérez. Maestra en Ciencias, Técnica asociada al Laboratorio de Inmunoterapia Experimental de la Facultad de Medicina. UNAM
- Dra. Valeria Montserrat Gómez Molinar. Médico Residente de tercer año de la especialidad de Dermatología en del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua
- Carolina Morán Estrella. Enfermera de la Clínica de Úlceras del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua

10.2. Materiales

- Consentimiento informado (Anexo 1)
- Hoja de recolección de datos inicial (Anexo 2)
- Hoja de evaluación semanal (Anexo 3)
- Cámara fotográfica Fuji Film
- Torundas benzal
- Hojas de bisturí estériles
- Guantes estériles y desechables, gasas estériles.
- Equipo estéril quirúrgico para desbridación
- Refrigerador
- Apósitos de constructos de fibroblastos sobre matriz de fibrina
- Apósito hidrocoloide
- Computadora personal
- Programa SPSS 21 para Mac

11. RESULTADOS.

Durante la evaluación inicial, se consideraron 30 pacientes, de los cuales se excluyeron 6 pacientes en total, por no cumplir criterios de inclusión/exclusión.

Las causas de exclusión fueron las siguientes: infección severa, gangrena, descontrol glucémico ($HbA1c > 7.5$), enfermedad arterial, así como por requerir hospitalización. De los 24 pacientes incluidos, se aleatorizaron de acuerdo a disposición de material.

De los pacientes incluidos, se asignaron 13 pacientes al grupo de apósito de fibroblastos cultivados y 11 pacientes al grupo de apósitos hidrocoloides. Del primer grupo se perdió un paciente por falta de apego a las citas y en otro paciente se interrumpió la intervención por descontrol glucémico. Del grupo control se perdieron dos pacientes por falta de apego a las citas de seguimiento. Por lo que resultan 11 pacientes del grupo de intervención con fibroblastos cultivados y 9 pacientes del grupo de apósitos hidrocoloides. Figura 2.

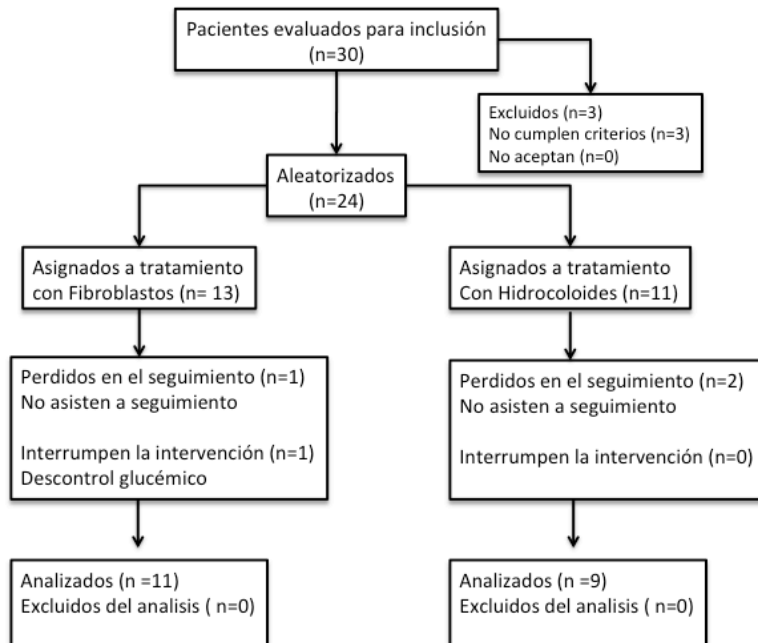


Figura 2. Perfil del estudio

11.1 Análisis cuantitativo y cualitativo.

Se realizó un análisis descriptivo para las variables cuantitativas, consistente en obtener la media, desviación estándar o típica, los valores máximo y mínimo y las percentiles 25, 50 y 75. Para comparar la homogeneidad de los grupos que se les aplicaron fibroblasto o hidrocoloides se compararon las medias de las variables edad, índice de tobillo brazo, evolución DM (años), evolución de la úlcera (meses), HbA1c, fibrina Inicial, tejido de granulación inicial, necrosis inicial, islas de epitelio inicial, dolor inicial y área inicial se utilizó la prueba de t de Student para dos muestras independientes. Tabla 1

Tabla 1. Características demográficas iniciales (Cuantitativas)						
Variable	Media	P ₂₅₋₇₅	DE	Vmin	Vmax	Valor P
Edad	64.13	57 a 72	9.2	47	78	0.347
Índice tobillo brazo	0.917	0.8 a 1	0.1	0.8	1.2	0.398
Evolución DM (años)	14.4	10 a 19.25	6.35	6	30	0.109
Evolución úlcera (meses)	12.38	1.25 a 25	12.1	1	36	0.971
HbA1c	6.81	6.62 a 7.0	0.18	6.5	7.0	0.952
Fibrina inicial (%)	55	40 a 67.5	13.8	40	80	0.667
Tejido de granulación inicial (%)	44.1	32.5 a 60	14.1	20	60	0.495
Necrosis inicial (%)	0.42	0	2.04	0	10	0.369
Islas de epitelio inicial (%)	0.83	0	2.8	0	10	0.189
Dolor inicial	3.38	2 a 4.75	1.9	0	8	0.091
Área inicial	8.14	1.78 a 8.85	12.1	1.20	55.2	0.351

Previamente a la comparación de medias se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene.

Para las variables cualitativas se obtuvo su distribución por frecuencia absoluta y relativa, medida ésta como proporción mediante tablas de contingencia y calculando X^2 . Tabla 2 y Figura 3.

Tabla 2. Características demográficas iniciales (Cualitativas)			
	Fibroblastos N=13	Hidrocoloides N=11	Valor P
	Porcentaje	Porcentaje	
Sexo			0.642
Femenino	12.5 (2)	4.2 (1)	
Masculino	45.8 (11)	41.5 (10)	
Topografía			0.130
Dorso	29.7 (7)	8.3 (2)	
Maleolo lateral	0	12.5 (3)	
Maleolo medial	4.2(1)	4.2 (1)	
Planta	20.8 (5)	20.8 (5)	
Cantidad de exudado inicial			0.432
Seca	16.7(4)	12.5 (3)	
Húmeda	33.3 (8)	20.8 (5)	
Moderada	4.2 (1)	12.5 (3)	
Severa	0	0	
Características de exudado inicial			0.494
Sin exudado			
Seroso	20.8 (5)	12.5 (3)	
Serohemático	29.2 (7)	33.3 (8)	
Seropurulento	4.2 (1)	0	
	0	0	

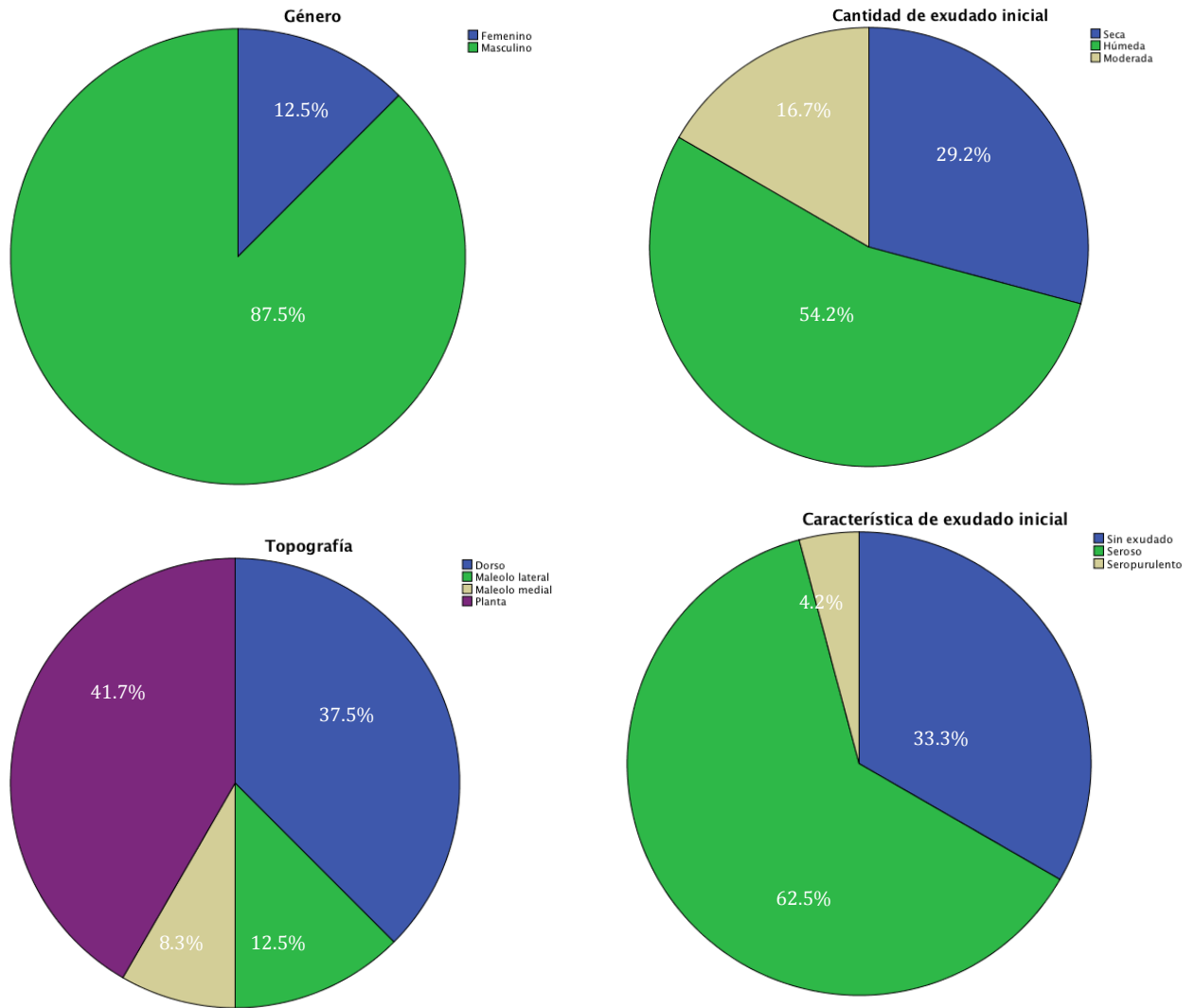


Figura 3. Características cualitativas iniciales

Los dos grupos de fueron similares al inicio, ya que no hubo significancia estadística en ninguna de sus variables.

Características de los pacientes

Grupo caso: se incluyeron 13 pacientes, de los cuales el promedio de edad fue de 62.46 años, el ITB de 0.93, la evolución de DM fue de 12.5 años, evolución de úlcera de 12.46 meses, HbA1c de 6.82, % de fibrina inicial de 56.15, % tejido de granulación de 42.5, % de necrosis inicial de 0.77, % islas de epitelio de 1.54, dolor inicial de 2.77, área inicial de 10.33cm². En cuanto a las variables cualitativas, se encontró que 2 (12.5%) pacientes fueron del sexo femenino y 11 (45.8%) del sexo masculino, la topografía de la úlcera fue en 7 pacientes (29.5%) en el dorso del pie, 0 pacientes en el maléolo lateral, 1 (4.2%) paciente en maléolo medial y 5 (20.8%) en planta. La cantidad de exudado inicial fue seca en 4 (16.7%) pacientes, húmeda en 8 (33.3) pacientes, moderada en 1 (4.2%) paciente y severa en ningún paciente. En cuanto a las características del exudado, 5 (20.8%) pacientes no tenían exudado, 7 (29.2%) pacientes tenían exudado seroso, 1 (4.2%) paciente tenía exudado serohemático y ninguno tenía exudado seropurulento.

Grupo control: se incluyeron 11 pacientes, de los cuales el promedio de edad fue de 66 años, el ITB de 0.89, la evolución de DM fue de 16.7 años, evolución de úlcera de 12.27 meses, HbA1c de 6.87, % de fibrina inicial de 53.6, % tejido de granulación de 46.3 % de necrosis inicial de 0, % islas de epitelio de 0, dolor inicial de 4.0, área inicial de 5.5 cm². En cuanto a las variables cualitativas, se encontró que 1 (4.2%) pacientes fueron del sexo femenino y 10 (41.5%) del sexo masculino, la topografía de la úlcera fue en 2 pacientes (12.5%) en el dorso del pie, 5 (20.8%) pacientes en el maléolo lateral, 3 (12.5%) paciente en maléolo medial y 0 en planta. La cantidad de exudado inicial fue seca en 3 (12.5%)

pacientes, húmeda en 5 (20.8%) pacientes, moderada en 3 (12.5%) paciente y severa en ningún paciente. En cuanto a las características del exudado, 3 (12.5%) pacientes no tenían exudado, 8 (33.3%) pacientes tenían exudado seroso, ningún paciente tenía exudado serohemático ni seropurulento.

Proporción de cierre de la úlcera

Al final del estudio el cierre completo de la ulcera se encontró en 10/11 pacientes (90.9%) en el grupo tratado con fibroblastos cultivados, comparado con 1/9 pacientes (9.09%) en el grupo tratado con apósitos hidrocoloides ($p=0.001$). (Figura 4) El tiempo medio de cierre completo fue de 4 semanas en el grupo tratado con fibroblastos cultivados, comparado con mas de 8 semanas en el grupo tratado con apósitos hidrocoloides.

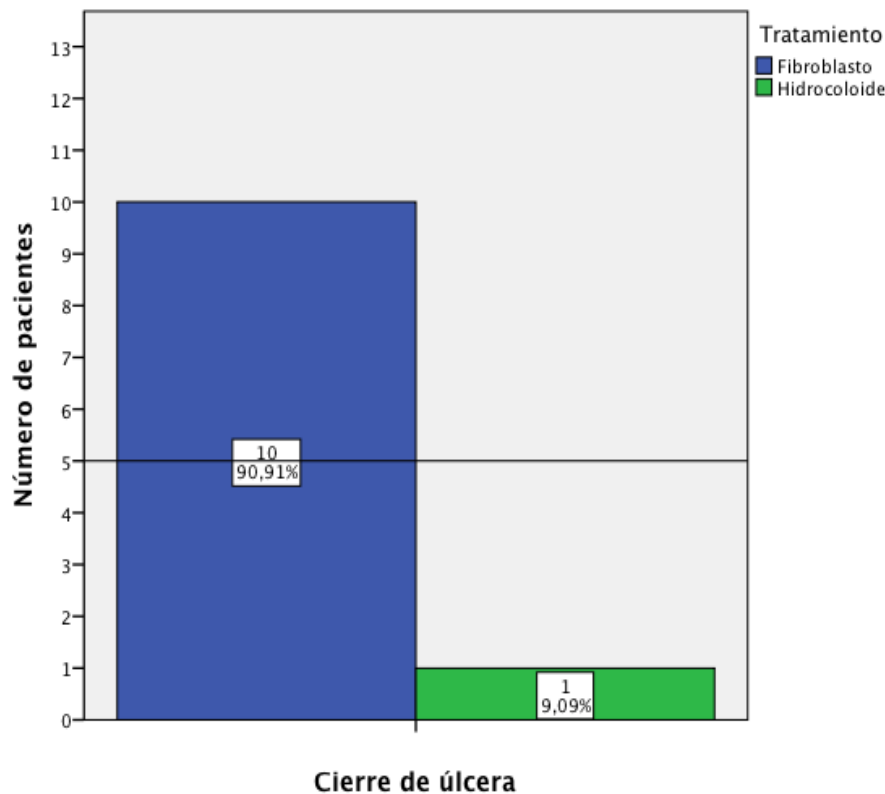


Figura 4. Proporción de pacientes con cierre completo de úlcera por tratamiento

Porcentaje de reducción de área semanal

Para evaluar la dinámica del tamaño del área de la herida (cm²) semanalmente, se compararon las medias de esta variable en cada tratamiento mediante el estadístico t de Student y previamente se contrastó la homogeneidad de las varianzas respectivas con la prueba de Levene, ya mencionadas anteriormente, encontrándose una significancia estadística desde la tercera semana de tratamiento, a favor de los apósitos del grupo caso. Tabla 3. Gráficamente podemos observar que hay un aumento considerable en el porcentaje de reducción del área por semana en el grupo de los fibroblastos cultivados en

comparación con una disminución en el porcentaje de reducción del área por semana el grupo de apósitos hidrocoloides, representando un crecimiento de la úlcera. Figura 5

Tabla 3. Reducción porcentual de área por semana

Porcentaje de reducción de área por semana			
Semana	Fibroblastos	Hidrocoloides	Valor P
1	25.1%	-18.3%	0.176
2	52.8%	-19.1%	0.019
3	76.2%	-17.2 %	0.008
4	93.8%	-19.2%	0.003
5	98.63%	-32.8%	0.002
6	98.6%	-12.4%	0.002
7	98.7%	1.4%	0.002
8	99.4%	24.8%	0.002

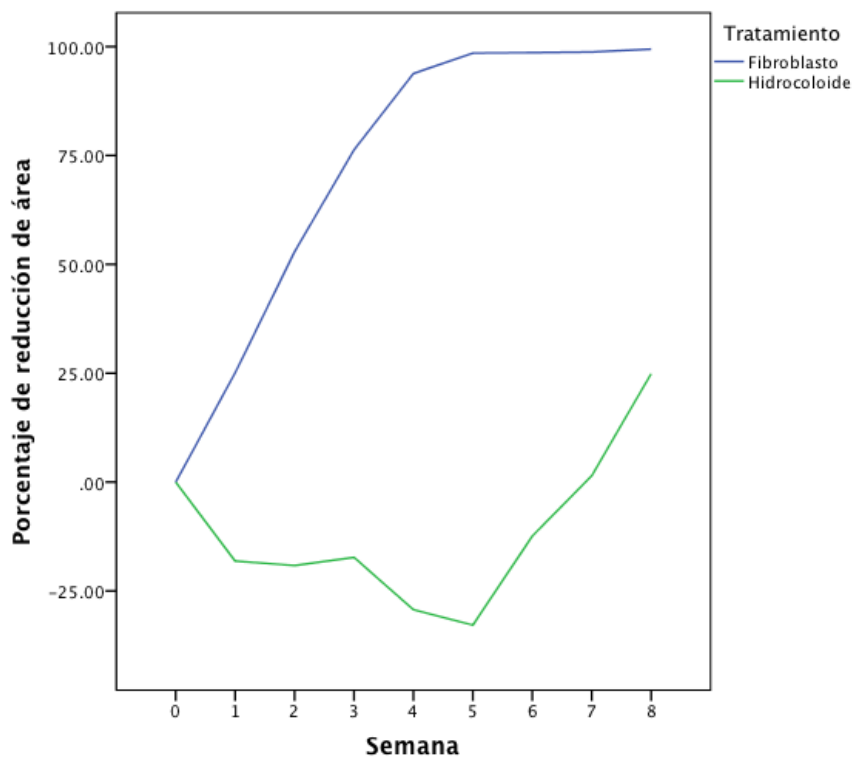


Figura 5. Porcentaje de reducción de área semanal

El promedio de apósitos de fibroblastos aplicados por paciente durante el

estudio fue de 3.6 (mínimo 2, máximo 8), más específicamente 2 pacientes requirieron 2 apósitos, 5 pacientes requirieron 3 apósitos, 2 pacientes 4 apósitos, 1 paciente requirió 5 apósitos y 1 paciente requirió 8 apósitos. Por el contrario el promedio de apósitos de hidrocoloides aplicados por paciente durante el estudio fue de 7.3 (mínimo 2, máximo 8), mas específicamente, 1 paciente requirió dos apósitos y 8 requirieron 1 apósito.

Velocidad de reducción del área

La velocidad de reducción de área promedio fue de 0.21 cm²/día para el grupo de fibroblastos y de 0.032 cm²/día (p=0.001). Figura 6.

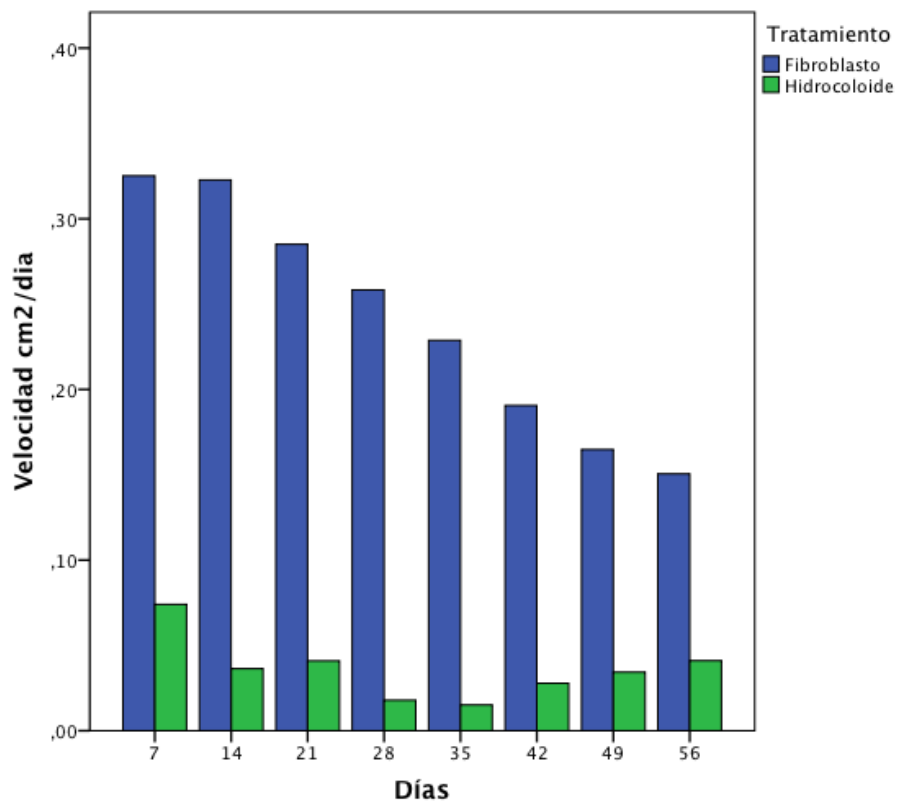


Figura 6. Velocidad promedio de reducción de área por día

Dolor

En cuanto al dolor, hubo una disminución gradual en el grupo de fibroblastos cultivados, llegando a 0 desde la cuarta semana, en comparación con el grupo de hidrocoloideos, en donde incluso hubo un aumento en el dolor, sin llegar a 0 durante el estudio. Tabla 4. Figura 7

Tabla 4. Evaluación del dolor durante el estudio

Promedio de Dolor			
Semana	Fibroblastos	Hidrocoloideos	Valor P
1	1.77	3.82	0.004
2	0.69	3.64	0.001
3	76.2%	-17.2 %	0.008
4	93.8%	-19.2%	0.003
5	98.63%	-32.8%	0.002
6	98.6%	-12.4%	0.002
7	98.7%	1.4%	0.002
8	99.4%	24.8%	0.002

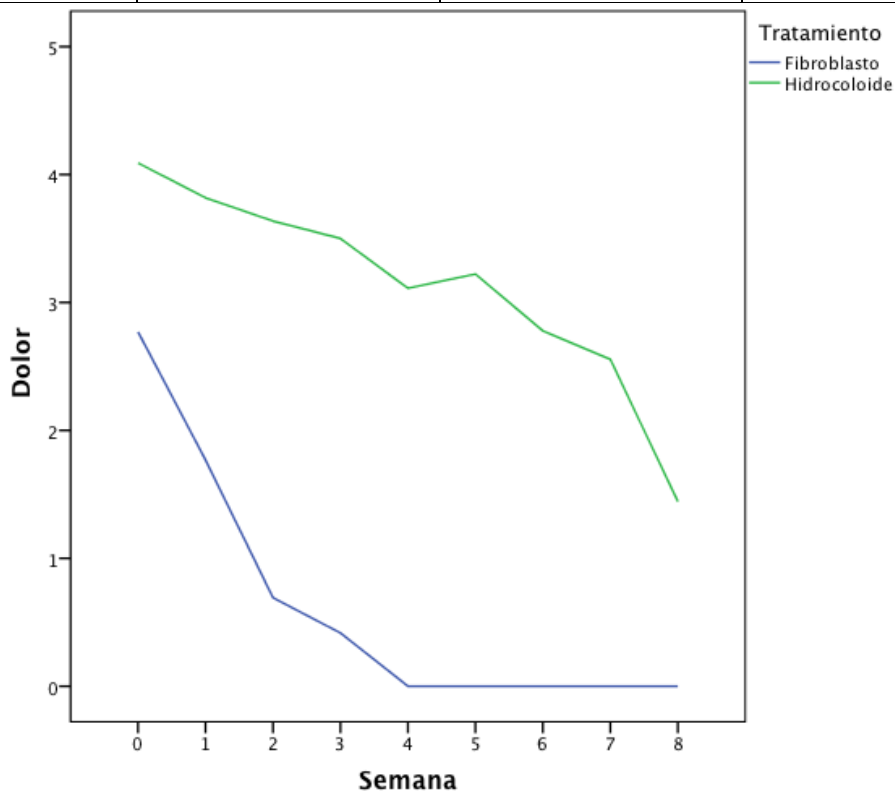


Figura 7. Evaluación del dolor durante el estudio

Islas de epitelio

Las islas de epitelio se fueron incrementando gradualmente durante la evolución del tratamiento, siendo estadísticamente significativo durante la segunda a quinta semana de tratamiento en el grupo de fibroblastos. Tabla 5, Figura 8

Tabla 5 . Islas de epitelio

Islas de epitelio (%)			
Semana	Fibroblastos	Hidrocoloides	Valor P
1	58.7	47.1	0.237
2	75.5	46.6	0.001
3	79.0	39.0	0.004
4	85.6	46.1	0.004
5	87.2	44.3	0.004
6	89.3	42.8	0.006
7	89.3	66.3	0.013
8	89.9	74.77	0.012

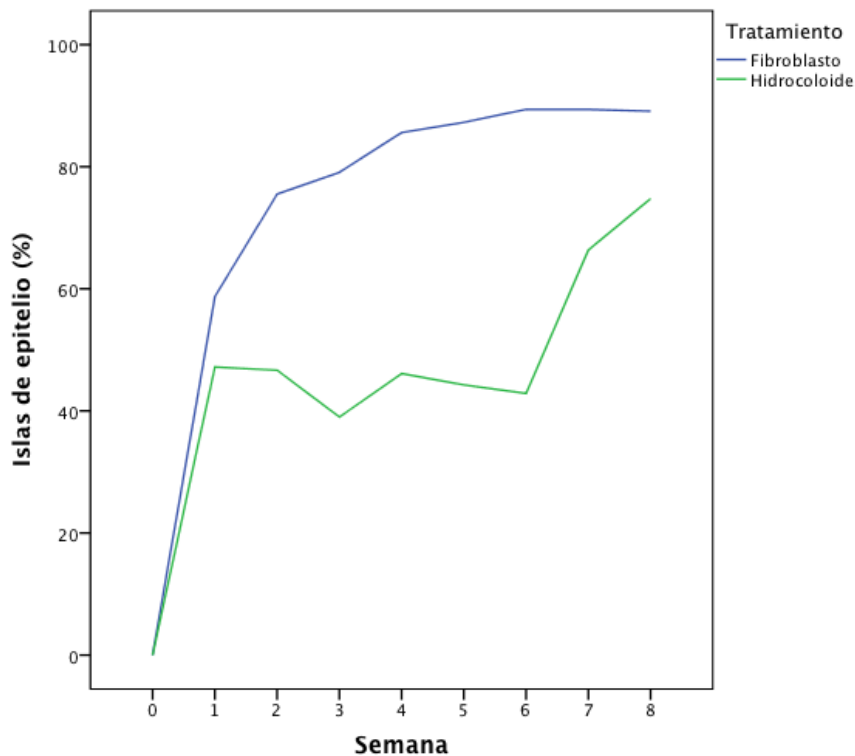


Figura 8. Islas de epitelio por semana

Adherencia al tratamiento

1 paciente del grupo caso y uno del grupo control no acudieron a citas posteriores a partir de la cuarta semana y un paciente del grupo control no acudió a citas posteriores a partir de la tercera semana. Al final se tuvo una adherencia al tratamiento del 92% en el grupo caso versus 81.8% en el grupo control.

Efectos adversos.

1 paciente del grupo caso presentó infección en el sitio de la úlcera relacionado con descontrol glucémico durante el estudio, ningún paciente del grupo control presentó infección. 4 pacientes del grupo control presentaron aumento considerable en la intensidad del dolor, ningún paciente del grupo caso presentó aumento en la intensidad al dolor.

12. DISCUSIÓN

Las úlceras de pie diabético son un problema actual de salud pública en México y el mundo, no solo por la afección en la calidad de vida que presentan estos pacientes, sino por los costos que genera el tratamiento de las mismas. Se sabe que el tratamiento de éstas úlceras es multidisciplinario y en general va encaminado a desbridación intensiva, gasas húmedas que conserven un ambiente de hidratación y la liberación de presión en el área afectada.³ En nuestro estudio, en cada visita semanal, se hizo desbridación intensiva, se aplicaron los apósitos hidrocoloides y los apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina, los cuales actuaron como “gasa húmeda” y a todos los pacientes se les realizó una valoración por el servicio de rehabilitación para la colocación de dispositivos que redujeran la carga en el área afectada.

No existen estudios actuales del uso de apósitos de fibroblastos humanos cultivados sobre una matriz de fibrina, lo cual hace este estudio de gran importancia.

La selección de pacientes para la aplicación de las dos diferentes intervenciones, se realizó en base al tratamiento disponible, esto fue debido a que la fabricación de los apósitos de fibroblastos conllevan un tiempo mínimo de producción de 3 a 5 días, no podían ser conservados mas allá de 7 días e incluso la matriz de fibrina se degradaba antes de la aplicación, teniendo que esperar la producción de nuevos apósitos para su aplicación, ocasionando una cierta dificultad en la disposición y aplicación continua de éstos, en caso de ser necesario de acuerdo a la aleatorización.

Se seleccionaron adultos de ese grupo de edad ya que el estudio solo involucró pacientes con DM2 la cual se desarrolla generalmente después de la cuarta década de la vida y el tiempo en desarrollar una úlcera de pie diabético es a los 10 años de diagnóstico, el cual tiene una evolución crónica y recurrente.⁸⁷

En nuestra población estudiada, predominó el sexo masculino de manera importante, a pesar de que en la literatura describe una prevalencia similar en ambos sexos o ligeramente aumentada en pacientes de sexo femenino, los pacientes del sexo masculino presentan un factor de mal pronóstico.¹ En nuestro estudio se reflejó una mayor prevalencia en el sexo masculino probablemente por la evolución de la DM y por el mal control glucémico crónico, los cuales son factores importantes en el desarrollo y recurrencia de UPD. La evolución de la DM 2 en el sexo femenino fue en promedio de 18 años versus 26 años en el sexo masculino.

La fisiopatología de la DM es complicada y compleja, en general se sabe que existen factores involucrados como la neuropatía, vasculopatía y factores inmunológicos que ocasionan la cronicidad en las úlceras de pie diabético. El índice tobillo- brazo se considera como un factor importante para evaluar la presencia o ausencia de enfermedad arterial periférica, sin embargo, a pesar de que en nuestro estudio se consideró como un criterio de inclusión un valor mayor a 0.8 para descartar enfermedad arterial, se agregó también como criterio la presencia de pulso pedio, ya que actualmente se sabe que éste índice no es totalmente confiable para evaluar la arteriopatía periférica debido a que la hialinización arteriolar asociada a la diabetes, puede ocasionar falsos negativos en esta prueba.⁴⁹

Como parte de los criterios de inclusión del estudio fue indispensable el control glucémico de los pacientes, ya que se ha visto que un factor importante en la cronicidad de éstas úlceras es la hiperglucemia, la cual induce la producción de moléculas inflamatorias que alteran la síntesis de colágena así como alteraciones físicas y biológicas en los fibroblastos, teniendo una relación directamente proporcional entre el nivel de HbA1c y el tiempo de curación de heridas.⁶⁴ Un paciente fue excluido del estudio por presentar descontrol glucémico durante el estudio y precisamente fue éste mismo el único que presentó infección en el sitio de la úlcera, probablemente relacionado por el mismo descontrol glucémico.

Un problema que pudiera surgir con la aplicación de fibroblastos humanos cultivados, en un huésped alogénico, es la inducción de una respuesta inmunológica que cause su rechazo, sin embargo no hay evidencia actual de este supuesto, debido a dos factores: 1) a los pocos marcadores tisulares HLA que tienen los fibroblastos, haciéndolos relativamente no antigénicos y 2) por el poco tiempo de contacto con la úlcera.⁸⁸

La evolución promedio de las úlceras fue similar en ambos grupos, sin embargo se encontró que en úlceras de mayor tamaño y mayor tiempo de evolución el cierre fue mas lento, lo cual correlaciona con lo reportado en la literatura.

La proporción de cierre de las úlceras en el grupo caso fue considerablemente mayor al grupo control, lo cual tiene diversas explicaciones que se comentaran a continuación. El apósito en el grupo caso está conformado por fibroblastos cultivados y fibrina. Los fibroblastos de los pacientes diabéticos caen en senescencia, en donde su función esta agotada, proliferando en una tasa

subóptima para reparar la úlcera, por otra parte, se encuentran cambios morfológicos que alteran su función.³³ Al aplicar fibroblastos cultivados “nuevos” en las úlceras de estos pacientes, la función de éstas células se encuentra intacta, favoreciendo a la producción adecuada de matriz extracelular y de colágena, haciendo el cierre de la úlcera mas efectivo.⁸⁸

Por otra parte, la fibrina es una proteína directamente involucrada en el proceso de curación de heridas, que además de servir como andamio de células por la estructura biológica que tiene, provee de moléculas bioactivas que promueven angiogénesis y reepitelización de las úlceras de forma mas rápida.⁸⁹

Al tener ambos componentes en el mismo apósito, se cubren necesidades mas amplias, para el cierre de éstas úlceras.

En cuanto a la adherencia al tratamiento, ésta fue menor en el grupo control, probablemente por aumento en la intensidad del dolor y poca respuesta en la reducción del área de la úlcera.

13. CONCLUSIONES

En el presente ensayo clínico controlado, la tasa de curación fue mayor en el grupo de apósitos compuestos por fibroblastos y fibrina al compararse con el tratamiento estándar actual para el tratamiento de úlceras de pie diabético, sin efectos adversos significativos.

Debido al gran costo que genera el tratamiento de las UPD, existe una necesidad de terapias más efectivas dirigidas a la fisiopatología de este proceso. Recientemente se han desarrollado tecnologías en la ingeniería de tejidos que producen equivalentes cutáneos para el tratamiento de úlceras crónicas.

Existen diversos apósitos celulares (fibroblastos, queratinocitos, células madre de adipocitos, entre otras) creados con bioingeniería, sin embargo, el andamio en el que se sostienen estas células es de material sintético o semi sintético, lo cual eleva enormemente los costos de producción y comercialización.

Al crear un apósito que incluya fibroblastos cultivados sobre un andamio de fibrina (ambos tejidos biológicos) disminuye considerablemente el costo de los mismos, aunado a el efecto benéfico que se ha demostrado, deben considerarse como una línea de tratamiento en estas úlceras.

14. ANEXOS

Anexo 1. Carta de consentimiento informado

México DF., a _____ de _____ 2015

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado: **Ensayo clínico aleatorizado sobre la eficacia del uso de apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina, comparado con apósitos hidrocoloides, en pacientes con úlceras de pie diabético.**

El estudio consiste en la aplicación de apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina y apósitos hidrocoloides semanalmente. Los efectos secundarios consisten en infección, dolor en el sitio de la úlcera, osteomielitis y fiebre. En caso de alguna complicación se cuenta con el personal necesario con suficiente experiencia para la vigilancia y tratamiento para este tipo de eventos. El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta o aclarar cualquier duda que tenga en relación con la investigación o con mi tratamiento. El investigador me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Me comprometo a asistir a 8 citas semanales a partir de hoy para curación, aplicación del tratamiento, evaluación de mi enfermedad con toma de fotografías únicamente en el sitio de la úlcera; además al iniciar y al terminar el estudio se me practicarán exámenes clínicos de sangre necesarios para completar mi estudio. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento que lo considere conveniente sin que ello afecte la atención médica que recibo

Los beneficios consisten en probar la efectividad y seguridad de un nuevo tratamiento para las úlceras de pie diabético a base de un apósito biológico, además de que se me proporcionará un cuidado estrecho de mi enfermedad.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los efectos adversos y beneficios derivados de mi participación en el estudio, así como del tiempo de seguimiento.

PACIENTE

TESTIGO 1

Nombre y firma

INVESTIGADOR

Nombre y firma

TESTIGO 2

Nombre y firma

Anexo 2. Hoja de recolección de datos inicial

PROYECTO DE INVESTIGACION: Ensayo clínico aleatorizado sobre la efectividad del uso de apósitos de fibroblastos cultivados sobre matriz de fibrina, comparado con apósitos hidrocoloides, en pacientes con úlceras de pie diabético

INDICACIONES: El presente formato deberá ser llenado por un médico autorizado para la investigación, y se aplicará a todos los pacientes canalizados por el médico tratante con el diagnóstico de ULCERA DE PIE DIABETICO DE MIEMBROS INFERIORES. Este cuestionario tiene como finalidad recolectar datos de los sujetos del ensayo clínico.

Número de paciente _____
 Iniciales del paciente _____
 Expediente hospital _____

Fecha _____
 Visita _____
 Teléfono _____

I.- Generales

1) Edad	(años)	
2) Género	1=Masculino, 2= Femenino	

II.- Aleatorización

3) Tipo de tratamiento	1=apósito biológico 2= apósito hidrocoloide	
------------------------	---------------------------------------------	--

III.- Antecedentes

4) Tiempo de evolución de la úlcera	(meses)	
5) Tiempo de evolución de DM	años	

IV.- Tamaño de la herida

6) Largo	Medir la mayor longitud de la úlcera*	cm
7) Ancho	Medir el mayor ancho de la úlcera* perpendicular al largo	cm

V.- Características de la herida (cuantitativa)

Escriba en porcentaje la cantidad total de cada uno de los siguientes (el total debe sumar 100%):

9) Islas de epitelio	Piel rosa o blanca dentro de la úlcera no adherida al borde	%
10) Granulación	Rojo	%
11) Fibrina	Amarillo	%
12) Necrosis/escara	Café/Negra	%

VI.- Exudado

14) Cantidad	1= Herida seca 2= Húmeda o leve (normal) 3= Moderada 4= Severa	
15) Tipo	1= Sin exudado 2= Seroso a serohemático 3= Seropurulento (pus líquido) 4= Francamente purulento (pus espeso)	

VII.- Infección

16) Infección	1= Ausente, 2= Presente	
---------------	-------------------------	--

VIII.- Dolor en la heridas

Pida al paciente que anote en la escala visual análoga (Hoja EVA dolor) su valoración donde 0 equivale a sin dolor y 10 el peor dolor posible.

17) Escala visual análoga (dolor)		
-----------------------------------	--	--

Anexo 3: Hoja de evaluación semanal

Número de paciente _____
 Iniciales del paciente _____
 Expediente hospital _____

Fecha _____
 Visita _____
 Teléfono _____

I.- Tamaño de la herida

1) Medición fotográfica	Medir usando Image J	cm2
2) Largo	Medir la mayor longitud de la úlcera*	cm
3) Ancho	Medir el mayor ancho de la úlcera* perpendicular al largo	cm

III.- Características de la herida (cuantitativa)

Escriba en porcentaje la cantidad total de cada uno de los siguientes (el total debe sumar 100%):

4) Islas de epitelio	Piel rosa o blanca dentro de la úlcera no adherida al borde	%
5) Granulación	Rojo	%
6) Fibrina	Amarillo	%
7) Necrosis/escara	Café/Negra	%

IV.- Exudado

8) Cantidad	1= Herida seca 2= Húmeda o leve (normal) 3= Moderada 4= Severa	
9) Tipo	1= Sin exudado 2= Seroso a serohemático 3= Seropurulento (pus líquido) 4= Francamente purulento (pus espeso)	

V.- Dolor en la herida

Pida al paciente que anote en la escala visual análoga (Hoja EVA dolor) su valoración donde 0 equivale a sin dolor y 10 el peor dolor posible.

10) Escala visual análoga (dolor)		
-----------------------------------	--	--

15. IMÁGENES

Grupo caso

Fibroblastos



Paciente 6

Inicial

Semana 2

Semana 4



Paciente 8

Inicial

Semana 2

Semana 4

Semana 6



Paciente 5

Inicial

Semana 1

Semana 2

Semana 3



Paciente 2

Inicial

Semana 1

Semana 2

Semana 3

Grupo control



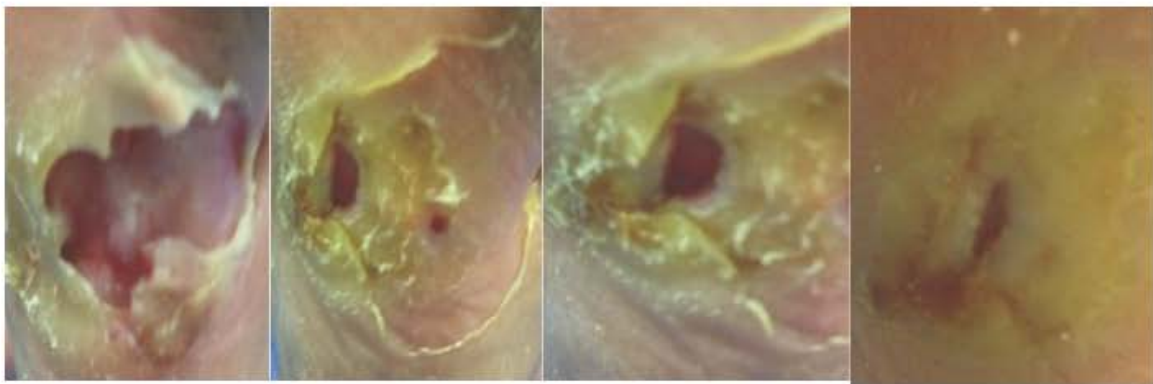
Paciente 15

Inicio

Semana 2

Semana 6

Semana 8



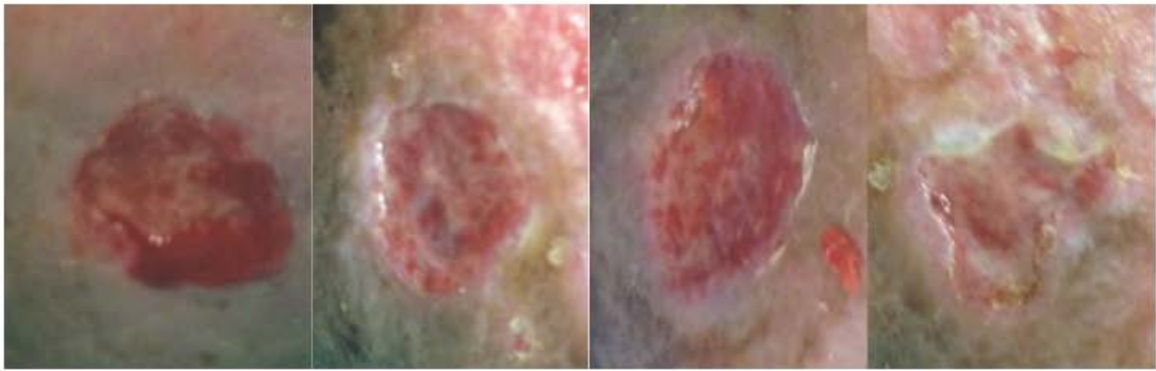
Paciente 17

Inicio

Semana 2

Semana 6

Semana 8



Paciente 22

Inicio

Semana 2

Semana 6

Semana 8



Paciente 23

Inicio

Semana 2

Semana 6

Semana 8

16. BIBLIOGRAFÍA

1. American Diabetes association. Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2014; 37 (1): S81-S90
2. Fowler, M.J. Microvascular And Macrovascular Complications Of Diabetes. Clinical Diabetes 2008; 26: 77-82.
3. International Best Practice Guidelines: Wound Management in Diabetic Foot Ulcers. Wounds International, 2013. Disponible en: [Www. Woundsinternational.Com](http://www.Woundsinternational.Com)
4. Mulder G, Armstrong D, Seaman S. Diabetic Foot Ulcerations: Dressings. Wounds 2003;15:4–15.
5. Shaw, J.E., Sicree, T.A & Zimmet, P.Z., Global Estimates Of The Prevalence Of Diabetes For 2010 And 2030. Diabetes Res. Clin. Pract. 2010; 87: P 4-14
6. Whiting, D.R., Guariguata, L., Weil, C. And Shaw, J. IDF Diabetes Atlas: Global Estimates Of The Prevalence Of Diabetes For 2011 And 2030. Diabetes Research And Clinical Practice, 2011; 94: 311-321.
7. World Health Organization web site. Facts and figures about diabetes. Disponible en: <http://www.who.int/diabetes/facts/en/>
8. Base De Datos De Defunciones 1990-2011. INEGI/Secretaría De Salud. Base De Datos Del SEED 2012, Información Preliminar. DGIS/DGE.
9. Boulton AJ, Armstrong DG, Albert SF, Frykberg RG, Hellman R, Kirkman MS, et al. Comprehensive foot examination and risk assessment: a report of the task force of the foot care interest group of the American Diabetes Association, with

- endorsement by the American Association of Clinical Endocrinologists. *Diabetes Care* 2008; 31:1679-85.
10. International Federation Of Diabetes. *Diabetes Atlas*, 5^a edition, 2012.
Disponible en: **Error! Hyperlink reference not valid.**
11. Armstrong DG, Lavery LA, Wrobel JS, Vileikyte L. Quality of life in healing diabetic wounds: does the end justify the means? *J Foot Ankle Surg* 2008; 47:278-82.
12. Centers for Disease Control and Prevention. National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, 2011. Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention.
13. Contreras J. Abordaje Y Manejo De Las Heridas. Capítulo 4 Cicatrización Normal Y Obstáculos Para La Misma: La Historia De Un Puente Roto. 1^a Edición 2012 pp. 31 a 48.
14. International Diabetes Federation Clinical Guidelines Taskforce. *Global Guideline For Type 2 Diabetes*. Brussels: IDF, 2012. Disponible en: <http://www.idf.org>.
15. Reinke J.M. Sorg. H. *Wound Repair And Regeneration*. *Eur Surg Res* 2012;49:35–43
16. S. Werner And R. Grose, "Regulation Of Wound Healing By Growth Factors And Cytokines," *Physiological Reviews*. 2003; 83 (3): 835–870.
17. Stojadinovic O, Pastar I, Gordon K, *Physiology And Pathophysiology Of Wound Healing In Diabetes*. *The Diabetic Foot: Medical And Surgical Management*, *Contemporary Diabetes*, 2012; 1: 127 - 149

18. Nwomeh BC, Liang H. Dynamics Of The Matix Metalloproteinases MMP-1 Y MMP-8 In Acute Open Human Dermal Wounds. *Wound Repair And Regeneration* 1998; 6:127-34
19. Gordillo GM, Sen CK. Revisiting The Essential Role Of Oxygen In Wound Healing. *Am J Surg.* 2003;186:259-63.
20. Gill AL, Bell CN. Hyperbaric Oxygen: Its Uses, Mechanisms Of Action And Outcomes. *Q J Med.* 2004;97:385-95.
21. Margolis DJ, Kantor J, Berlin JA. Healing Of Diabetic Neuropathic Foot Ulcers Receiving Standard Treatment. A Meta-Analysis. *Diabetes Care* 1999; 22: 692–695.
22. Quattrini C, Jeziorska M, Malik RA. Small Fibre Neuropathy In Diabetes: Clinical Consequence And Assessment. *Int J Low Extrem Wounds* 2004; 3(1): 16–21.
23. N. Spravchikov, G. Sizyakov, M. Gartsbein, D. Accili, T. Tennenbaum, And E. Wertheimer, “Glucose Effects On Skin Keratinocytes: Implications For Diabetes Skin Complications,” *Diabetes*, 2001; 50 (7): 1627–1635.
24. M. Markuson, D.Hanson, J. Anderson Et Al., “The Relationship Between Hemoglobin A(1c) Values And Healing Time For Lowerextremity Ulcers In Individuals With Diabetes,” *Advances In Skin &Wound Care.* 2009; 22 (8): 365–372.
25. Sibbald Gary, Woo K, The Biology Of Chronic Foot Ulcers In Persons With Diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2008; 24(1): S25–S30.

26. Landis S, Ryan S, Woo K, Et Al. Infections In Chronic Wounds. Chronic Wound Care: A Clinical Source Book For Healthcare Professionals 4th Edn, 2007; 299–321.
27. Lobmann R, Zemin C, Motzkau M, Et Al. Expression Of Matrix Metalloproteinases And Growth Factors In Diabetic Foot Wounds Treated With A Protease Absorbent Dressing. J Diabetes Complicat 2006; 20: 329–335
28. Muller M, Trocme C, Lardy B, Morel F, Halimi S, Benhamou PY. Matrix Metalloproteinases And Dia- Betic Foot Ulcers: The Ratio Of MMP-1 To TIMP-1 Is A Predictor Of Wound Healing. Diabet Med. 2008; 25(4):419–26.
29. Cianfarani F, Toietta G, Di Rocco G, Cesareo E, Zambruno G, Odorisio T. Diabetes Impairs Adipose Tissue-Derived Stem Cell Function And Efficiency In Promoting Wound Healing. Wound Repair And Regeneration : Official Publication Of The Wound Healing Society [And] The European Tissue Repair Society. 2013;21(4):545-53
30. Tobita M, Orbay H, Mizuno H. Adipose-Derived Stem Cells: Current Findings And Future Perspectives. Discov Med 2011; 11: 160–70.
31. Falanga V. Wound Healing And Its Impairment In The Diabetic Foot. Lancet 2005; 366: 1736–1743
32. Loots MA, Lamme EN, Mekkes JR, Bos JD, Middelkoop E. Cultured Fibroblasts From Chronic Diabetic Wounds On The Lower Extremity (Non-Insulin- Dependent Diabetes Mellitus) Show Disturbed Prolif- Eration. Arch Dermatol Res. 1999; 291 (2) : 93–9.

33. Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, Levine JP, Gurtner GC. Cellular Dysfunction In The Diabetic Fibroblast: Impairment In Migration, Vascular Endothelial Growth Factor Production, And Response To Hypoxia. *Am J Pathol.* 2003;162(1):303–1
34. Hehenberger, K., Heilborn, J. D., Brisma, K., And Hansson, A. Inhibited Proliferation Of Fibroblasts Derived From Chronic Diabetic Wounds And Normal Dermal Fibroblasts Treated With High Glucose Is Associated With Increased Formation Of Lactate. *Wound Repair Regen.* 1998; 6: 135-41.
35. Mansbridge, J. N., Liu, K., Pinney, R. E., Patch, R., Ratcliffe, A., And Naughton, G. K. Growth Factors Secreted By Fibroblasts: Role In Healing Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Obes. Metab.* 1999; 1: 265-72
36. Bauer SM, Bauer RJ, Velazquez OC. Angiogenesis, Vasculogenesis, And Induction Of Healing In Chronic Wounds. *Vasc Endovascular Surg.* 2005;39(4): 293–306.
37. Stolle LB, Nielsen PR. The Metabolism If The Diabetic Foot. In Vivo Investigation With microdialysis. *Acta Orthop Scand* 2004; 75(1): 106–108.
38. Jorneskog G, Brismar K, Fagrell B. Skin Capillary Circulation Is More Impaired In Toes Of Diabetic Than Non-Diabetic Patients With Peripheral Vascular Disease. *Diabet Med* 1995; 12: 36–41.
39. Helary, C. Zarka M. Giraud M. Fibroblasts Within Concentrated Collagen Hydrogels Favour Chronic Skin Wound Healing. *Journal Of Tissue Engineering And Regenerative Medicine* 2012; 6(3):225-37

40. Agren MS, Werthen M. The Extracellular matrix In Wound Healing: A Closer Look At Therapeutics For Chronic Wounds. *Int J Low Extrem Wounds* 2007; 6: 82–97.
41. Alavi A, et al. Diabetic foot ulcers. Part I. Pathophysiology and prevention. *J AM Acad Dermatol*, 2014;70 (1); 1.e1- e18.
42. Erbersdobler HF, Faist V. Maillard reaction products: uptake, metabolic transit and selected parameters of biopotency and safety. *Forum Nutr* 2003;56:353-5.
43. Cavanagh PR, Bus SA. Off-loading the diabetic foot for ulcer prevention and healing. *J Am Podiatr Med Assoc* 2010;100: 360-8.
44. Ousey K, Cook L. Wound Assessment Made Easy. *Wounds UK* 2012;8(2). Disponible en: [Http://Www.Wounds-Uk.Com/Made-Easy/Woundassessment-Made-Easy](http://www.Wounds-Uk.Com/Made-Easy/Woundassessment-Made-Easy).
45. Peters EJ, Lipsky BA, Berendt AR, Embil JM, Lavery LA, Senneville E, et al. A systematic review of the effectiveness of interventions in the management of infection in the diabetic foot. *Diabetes Metab Res Rev* 2012;28 (1): 142-62.
46. Lavery LA, Peters EJ, Williams JR, Murdoch DP, Hudson A, Lavery DC, et al. Reevaluating the way we classify the diabetic foot: restructuring the diabetic foot risk classification system of the International Working Group on the Diabetic Foot. *Diabetes Care* 2008;31:154-6.
47. Katon JG, Reiber GE, Nelson KM. Peripheral neuropathy defined by monofilament insensitivity and diabetes status: NHANES 1999-2004. *Diabetes Care* 2013;36:1604-6.
48. Lepantalo M, Apelqvist J, Setacci C, Ricco JB, de Donato G, Becker F, et al. Chapter V: diabetic foot. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2011;42(2):S60-74.

49. Sinwar, P.D. The diabetic foot management. Recent advance. International Journal of Surgery 2015;15; 27e30
50. Kawarada O, Yokoi Y, et al. Assessment of macro- and microcirculation in contemporary critical limb ischemia. Catheter Cardiovasc Interv 2011;78:1051-8.
51. Thompson P, Hanson D, Langemo DK, Hunter S, Anderson J. Diabetic foot: Charcot neuropathic osteoarthropathy. Adv Skin Wound Care 2009;22:72-3.
52. Lipsky BA. Infectious problems of the foot in diabetic patients. In: Bowker JH, Pfeifer MA, editors. The diabetic foot, 6st. Louis: Mosby; 2001. p. 467–80
53. Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil J MWS, Karchmer AW, et al. IDSA guidelines: diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clin Infect Dis 2004 39:885– 910.
54. Candel Gonzalez FJ, Alramadan M. Metasanz M, Diaz A, Gonzalez Romo F, Candel I, et al. Infections of diabetic foot ulcer. Eur Intern Med 2003;14:31–3.
55. Abdulrazak A, Bitar ZI, Al-Shamali AA, Mobasher LA. Bacteriological study of diabetic foot infections. J Diabetes Complications. 2005;19(3):138-141.
56. Tentolouris N, Petrikkos G, Vallianou N, et al. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in infected and uninfected diabetic foot ulcers. Clin Microbiol Infect. 2006;12(2):186-189.
57. Williams DT, Hilton JR, Harding KG. Diagnosing foot infections in diabetes. Clin Infect Dis. 2004;39(suppl 2):S83-S86

58. Pellizzer G, Strazzabosco M, Presi S, et al. Deep tissue biopsy vs. superficial swab culture monitoring in the microbiological assessment of limb-threatening diabetic foot infection. *Diabet Med.* 2001;18(10):822-827.
59. Mazen S. Bader. MD. Diabetic Foot Infection. *Am Fam Physician.* 2008;78(1):71-79, 81-82
60. Karthikesalingam, A., Holt, P. J. E., Moxey, P., Jones, K. G., Thompson, M. M. And Hinchliffe, R. J. (2010), A Systematic Review Of Scoring Systems For Diabetic Foot Ulcers. *Diabetic Medicine*, 27: 544–549. Doi: 10.1111/J.1464-5491.2010.02989.X
61. S. Noor et al. Diabetic foot ulcer – A review on pathophysiology, classification and microbial etiology. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews.* 2015; 15: 1871-92
62. Lavery LA, Higgins KR, Lanctot DR, Constantinides GP, Zamorano RG, Athanasiou KA, et al. Preventing diabetic foot ulcer recurrence in high-risk patients: use of temperature monitoring as a self-assessment tool. *Diabetes Care* 2007;30:14-20.
63. Alavi A, et al. Diabetic foot ulcers. Part II. Management. *J AM Acad Dermatol*, 2014;70 (1); 1.e1- e18.
64. Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2004;141:421-31.
65. Elena Tsourdi, Andreas Barthel, Hannes Rietzsch, Andreas Reichel, and Stefan R. Bornstein, "Current Aspects in the Pathophysiology and Treatment of Chronic Wounds in Diabetes Mellitus," *BioMed Research*

- International, vol. 2013, Article ID 385641, 6 pages, 2013.
doi:10.1155/2013/385641
66. Nelson EA, O'Meara S, Golder S, Dalton J, Craig D, Iglesias C, for the DASIDU Steering Group. Systematic review of antimicrobial treatments for diabetic foot ulcers. *Diabet Med.* 2006;23(4):348-359.
67. Greer N, Foman N, Dorrian J, Fitzgerald P, Macdonald R, Rutks I, Wilt T. Advanced Wound Care Therapies For Non-Healing Diabetic, Venous, And Arterial Ulcers: A Systematic Review. VA-ESP Project #09-009; 2012.
68. W.A. Marston, J. Hanft, P. Norwood, Andr. Pollak, "The Efficacy And Safety Of Dermagraft In Improving The Healing Of Chronic Diabetic Foot Ulcers: Results Of A Prospective Randomized Trial," *Diabetes Care*, 2003; 26, 1701–1705.
69. A. Veves, V. Falanga, D. G. Armstrong, And M. L. Sabolinski, "Graftskin, A Human Skin Equivalent, Is Effective In The management Of Noninfected Neuropathic Diabetic Foot Ulcers: A Prospective Randomized Multicenter Clinical Trial," *Diabetescare*. 2001; 24: 290–295.
70. E. V. Badiavas And V. Falanga, "Treatment Of Chronic Wounds With Bone Marrow-Derived Cells," *Archives Of Dermatology*. 2003; 139: 510–516.
71. C. K. Kaufman, P. Zhou, H. A. Pasolli Et Al., "GATA-3: An Unexpected Regulator Of Cell Lineage Determination In Skin," *Genes And Development*. 2003; 17: 2108–2122.
72. Lacci KM, Dardik A. Platelet-Rich Plasma: Support For Its Use In Wound Healing. *Yale J Biol Med*. 2010.83(1):1-9

73. F. Gottrup And J. Apelqvist, "Present And New Techniques And Devices In The Treatment Of DFU: A Critical Review Of Evidence," *Diabetes/Metabolism Research And Reviews*, 2012; 28: 64–71
74. D. T. Ubbink, S. J. Westerbos, D. Evans, L. Land, And H. Vermeulen, "Topical Negative Pressure For Treating Chronic Wounds," *Cochrane Database Of Systematic Reviews*. 2015;6.
75. Dicosmo F. Edge Effect: The Role Of Collagen In Wound Healing. *Adv Skin Wound Care*. 2009;22(1):12-15.
76. Connors WL, Jokinen J, White DJ, Et Al. Two Synergistic Activation Mechanisms Of Alpha2beta1 Integrin-Mediated Collagen Binding. *J Biol Chem*. 2007;282:14675-83.
77. Zhong SP, Zhang YZ, Lim CT. Tissue Scaffolds For Skin Wound Healing And Dermal Reconstruction. *Nanomed Nanobiotechnol*. 2010;2:510-25.
78. Patrick S. Murphy And Gregory R. D. Evans, "Advances In Wound Healing: A Review Of Current Wound Healing Products," *Plastic Surgery International*, 2012;1; 1-8
79. Rheinwald JG, Green H. Serial Cultivation Of Strains Of Human Epidermal Keratinocytes: The Formation Of Keratinizing Colonies From Single Cells. *Cell* 1975;6: 331–43.
80. O'Connor NE, Mulliken JB, Banks-Schlegel A, Et Al. Grafting Of Burns With Cultured Epithelium Prepared From Autologous Epidermal Cells. *Lancet* 1981;1:75–8.

81. Gallico GG III, O'Connor NE, Compton CC, Et Al. Permanent Coverage Of Large Burn Wounds With Autologous Cultured Human Keratinocytes. *N Engl J Med* 1984;311:448–51.
82. Hefton JM, Amberson JB, Biozes DG, Et Al. Loss Of HLA-DR Expression By Human Epidermal Cells After Growth In Culture. *J Invest Dermatol* 1984;83:48–50.
83. Kashiwa N, Ito O, Ueda T, Et Al: Treatment Of Full-Thickness Skin Defect With Concomitant Grafting Of 6-Fold Extended Mesh Auto-Skin And Allogeneic Cultured Dermal Substitute, *Artif Organs*, 2004; 28: 444–450.
84. Hasegawa T, Suga Y, Mizoguchi M, Muramatsu S, Mizuno Y, Et Al. An Allogeneic Cultured Dermal Substitute Suitable For Treating Intractable Skin Ulcers And Large Skin Defects Prior To Autologous Skin Grafting: Three Case Reports. *J.Dermatol.* 2005;32:715–720
85. Greenhalgh, D. G. Wound Healing And Diabetes Mellitus. *Clin. Plast. Surg.* 2003; 30: 38-45
86. Tsang, M. W., Wong, W. K. R., Hung, C. S., And Lai, K.-M. Human Epidermal Growth Factor Enhances Healing Of Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Care* 2003 26: 1859- 67.
87. American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendations 2000. Preventive foot care in people with diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23 (1): 55-70
88. Kern A, Liu K, Mansbridge J: Modification of fibroblast interferon-gamma response by dermal fibroblast extracellular matrix. *Ann N Y Acad Sci* 961: 364 –367, 2002

89. Moura et al. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment. A Review. *Acta Biomaterialia*. 2003; 9: 7093-14
