



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL HOSPITAL DE  
ESPECIALIDADES “DR. ANTONIO FRAGA MOURET” CENTRO MÉDICO  
NACIONAL “LA RAZA”**

**EFICACIA DEL INJERTO GRASO AUTÓLOGO EN MANO COMO  
TRATAMIENTO PARA MEJORAR LAS MANIFESTACIONES  
HISTOPATOLÓGICAS DE LA PIEL EN PACIENTES CON ESCLERODERMIA.**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
CIRUGÍA PLÁSTICA Y RECONSTRUCTIVA**

**PRESENTA**

**DRA. CINDY VILLACOBOS LÓPEZ**

**ASESOR DE TESIS**

**DR. PEDRO GRAJEDA LÓPEZ**

**DRA. MARÍA DEL PILAR CRUZ DOMÍNGUEZ**

**DRA. MARÍA DEL ROSARIO MORA CAMPOS**

**Ciudad de México, Febrero 2020.**





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.

## HOJA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS

---

Dr. Pedro Grajeda López

Titular del Curso Universitario en Cirugía Plástica y Reconstructiva

UMAE, Hospital de Especialidades

“Dr. Antonio Fraga Mouret” Centro Médico Nacional “La Raza”

---

Dr. Pedro Grajeda López

Asesor de tesis

---

Dra. Cindy Villacobos López

Residente de Cuarto Año de Cirugía Plástica y Reconstructiva UMAE,

Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” Centro Médico

Nacional “La Raza”

Número de Registro de Protocolo:

R – 2020 – 3501 – 029

## ÍNDICE

I. RESUMEN.....	4
II. INTRODUCCIÓN .....	6
III. MATERIAL Y MÉTODO .....	19
IV. RESULTADOS.....	23
V. DISCUSIÓN .....	29
VI. CONCLUSIÓN .....	32
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	33
VIII. ANEXOS .....	38

## I. RESUMEN

### **Eficacia del injerto graso autólogo en mano como tratamiento para mejorar las manifestaciones histopatológicas de la piel en pacientes con esclerodermia**

**Material y métodos:** Ensayo clínico no controlado, prospectivo, reporte de casos, cuasi experimental, transversal, analítico y abierto. Se incluyeron pacientes con esclerodermia que presentaban daño en al menos una mano de moderado/severo según la escala de Rodnan. Se les tomó una biopsia de la lesión y se envió al servicio de patología; posteriormente se les aplicó injerto graso autólogo (como parte del protocolo de abordaje de pacientes con esclerodermia del estudio piloto “Efectividad de la lipoinyección autóloga en mano para mejorar la función en pacientes con esclerodermia” con N° de registro R-2018-3501-103); y se les dio seguimiento por 90 días para posteriormente realizar una nueva biopsia de la zona receptora del injerto. Ambas biopsias fueron analizadas desde el punto de vista microscópico.

**Resultados.** Se estudiaron 10 casos de mujeres con esclerodermia posterior con una edad promedio de  $52.4 \pm 9.52$  y 17.67 años de diagnóstico en promedio. Se presentó un aumento significativo en el número de vasos sanguíneos en la lesión ( $p < 0.0001$ ), así como un aumento en el calibre de los mismos ( $p = 0.01$ ). Sin cambios significativos en el tipo y cantidad de infiltrado inflamatorio de la lesión.

**Conclusión.** El injerto graso en mano de pacientes con esclerodermia mejora el tejido a nivel histológico y favorece la revascularización de la zona de lesión con vasos que se caracterizan por presentar un adecuado calibre.

**Palabras clave:** Esclerodermia, injerto graso, autólogo, histopatológico.

## **ABSTRACT**

### **Efficacy of autologous fat graft in hand as treatment to improve histopathological manifestations of the skin in patients with scleroderma**

**Material and methods:** Uncontrolled, prospective clinical trial, case report, quasi-experimental, transversal, analytical and open. In which scleroderma patients who had damage to at least one moderate / severe hand were included according to the Rodnan scale. To whom a biopsy of the lesion was taken and sent to the pathology department; subsequently they were applied autologous fatty graft (as part of the approach of patients with scleroderma of the pilot study “Effectiveness of autologous lipoinjection in hand to improve the function in patients with scleroderma” with Registration No. R-2018-3501-103 ); and they were followed up for 90 days to subsequently perform a new biopsy of the graft recipient area. Both biopsies were analyzed microscopically.

**Results** Ten cases of women with posterior scleroderma with an average age of  $52.4 \pm 9.52$  and 17.67 years of diagnosis on average were studied. There was a significant increase in the number of blood vessels in the lesion ( $p < 0.0001$ ), as well as an increase in the size of the lesions ( $p = 0.01$ ). No significant changes in the type and amount of inflammatory infiltrate of the lesion.

**Conclusion.** Fat grafting in patients with scleroderma improves tissue histologically and favors revascularization of the area of injury with vessels that are characterized by an adequate caliber.

**Keywords:** Scleroderma, fat grafting, autologous, histopathological.

## II. INTRODUCCIÓN

La esclerosis cutánea [griego: skleros (duro) + -osis (condición)] se caracteriza clínicamente por endurecimiento e induración de la piel, y microscópicamente por acumulación excesiva de colágeno con otros componentes de la matriz extracelular en la dermis y tejido subcutáneo.<sup>(1)</sup> Esto da como resultado una obliteración casi completa de los límites entre los haces de colágeno (homogeneización) con una marcada disminución de los fibroblastos.<sup>(2)</sup>

La esclerodermia es un trastorno del tejido conectivo que puede ser sistémico (formas limitadas y difusas) o limitado a la piel (morfea o esclerodermia localizada).<sup>(3)</sup> Clínicamente, ambos suelen afectar a mujeres adultas jóvenes e inicialmente se manifiesta con edema seguido por induración cutánea.<sup>(2)</sup>

La esclerodermia es una enfermedad del tejido conectivo caracterizada por la producción de autoanticuerpos, inflamación crónica, vasculopatía de pequeños vasos y depósito excesivo de colágeno en la piel y los órganos internos. La esclerodermia se divide según la extensión de la enfermedad en esclerodermia localizada y esclerodermia sistémica. La esclerodermia localizada se subdivide en subtipos en función de la ubicación, el grado de afectación y el nivel de afectación del tejido conectivo.<sup>(4)</sup> Por el contrario, la esclerodermia sistémica es una enfermedad extensa que involucra cambios en la piel, los tejidos blandos y daño grave en los órganos internos.<sup>(5)</sup>

### **Epidemiología**

Al ser una enfermedad multifactorial donde la asociación de determinadas variantes genéticas contribuye en conjunto a la susceptibilidad genética, tiene una incidencia y prevalencia con variables en distintos lugares, períodos de tiempo y edades.

En E.U. la incidencia fue 20/millón/año con prevalencia 500/millón. Para las formas localizadas: 20-27/1.000.000/año con una prevalencia publicada de 489/millón a los 18 años y 2200 a los 80.<sup>(6)</sup>

### **Fisiopatología de la esclerodermia**

#### **Respuesta inflamatoria**

La esclerodermia está asociada con inflamación generalizada en la piel y el tejido subcutáneo, con afectación de los órganos viscerales en la esclerodermia

sistémica. En las primeras etapas de la enfermedad, los infiltrados celulares, que consisten principalmente en linfocitos T colaboradores tipo 2, muestran marcadores de activación y exhiben expansión oligoclonal. <sup>(7)</sup> Estas características son paralelas al aumento en los niveles séricos del factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), factor de crecimiento derivado de plaquetas e interleucina-1. <sup>(8)</sup> El TGF- $\beta$  tiene un efecto en cascada al activar mediadores inflamatorios que promueven aún más la inflamación. <sup>(9)</sup> De manera similar, el factor de crecimiento derivado de plaquetas activa mediadores que aumentan la respuesta inflamatoria. <sup>(10)</sup>

### **Lesión vascular**

Después de la inflamación inicial, sobreviene la lesión vascular e involucra la lesión de los pequeños vasos. <sup>(11)</sup>

En las lesiones tempranas, hay un aumento en la apoptosis de las células endoteliales, lo que conduce a la pérdida de la integridad del revestimiento endotelial y la destrucción de la lámina basal. El daño vascular provoca la pérdida de los capilares. <sup>(12)</sup> Simultáneamente, se produce hiperplasia fibrótica de la íntima e hipertrofia del músculo liso en arterias y arteriolas, lo que produce estrechamiento progresivo de los vasos sanguíneos. <sup>(12)</sup> La vasculopatía produce un flujo sanguíneo insuficiente, causando hipoxia severa y crónica en los órganos internos, vasoespasmo, dolor isquémico en las extremidades, hiperplasia arterial pulmonar y crisis renal.

La respuesta inflamatoria y el compromiso vascular progresa a fibrosis cutánea. <sup>(11)</sup>

### **Fibrosis cutánea**

La fibrosis se inicia con la conversión de fibroblastos en miofibroblastos. Esta conversión está asociada con la sobreexpresión de citocinas, incluida la actina  $\alpha$  del músculo liso, el TGF- $\beta$ , la proteína quimioatrayente de monocitos 1 y los receptores tipo toll. <sup>(13)</sup> Los miofibroblastos transformados orquestan la producción, el depósito y la remodelación de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular. <sup>(14)</sup> La fibrosis en la piel comienza en la dermis profunda y la capa subcutánea superficial y se extiende a los apéndices dérmicos, la estructura reticular y las crestas interpapilares. <sup>(11)</sup>



Clínicamente, los pacientes demuestran engrosamiento de la piel, pérdida de folículos capilares y piel seca. <sup>(11)</sup>

### **Manifestaciones clínicas de la esclerodermia**

Entre los subtipos de esclerodermia localizada, la esclerodermia lineal se reconoce más fácilmente como deformidad lineal que se extiende desde la piel hasta el hueso de manera unilateral a lo largo de un dermatoma. <sup>(15)</sup> Las otras formas de esclerodermia, incluida la placa de morfea, la morfea profunda y la morfea generalizada, se presentan con una o más lesiones que varían en tipo y profundidad. <sup>(16)</sup>

La esclerodermia sistémica, por el contrario, se asocia con induración de la piel, pérdida de pliegues mímicos, adelgazamiento de los labios, pérdida de vello facial y presencia de rítidés profundas en la cara. <sup>(17)</sup> El grado de afectación facial determina la pérdida de expresividad. La esclerosis del tejido blando perioral produce microstomía, lo que afecta el habla, la masticación, el movimiento mandibular y la higiene bucal adecuada <sup>(17)</sup>

Órganos internos, incluidos los pulmones, los riñones y el esófago, pueden verse comprometidos en la esclerodermia sistémica cutánea difusa. <sup>(11)</sup>

### **Manifestaciones clínicas de la esclerodermia en mano**

Las manifestaciones cutáneas de la esclerodermia sistémica en la mano incluyen esclerosis cutánea, calcinosis, fenómeno de Raynaud y úlceras digitales. <sup>(18)</sup> La afectación articular se observa comúnmente en la esclerodermia sistémica, y la extensión y ubicación de la piel, el tendón y la cápsula determinan la gravedad. La esclerodermia sistémica cutánea limitada se caracteriza por la fibrosis cutánea de los dedos y las articulaciones de las manos. La esclerodermia sistémica cutánea difusa afecta el tronco, las extremidades superiores y las extremidades inferiores. Independientemente del grado de afectación, las manifestaciones más frecuentes de la enfermedad de la esclerodermia sistémica se observan en la mano. <sup>(19)</sup> Los pacientes con esclerodermia desarrollan sinovitis simétrica, poliarticular de las articulaciones metacarpofalángicas e interfalángicas proximales en un patrón similar a la artritis reumatoide. Aunque las contracturas articulares de la mano son comunes, la distorsión de la articulación interfalángica proximal es la más

común.<sup>(19)</sup> La esclerosis peritendinosa conduce al acortamiento del tendón y la destrucción de la articulación, lo que resulta en anquilosis. <sup>(19)</sup>

El daño en la mano debido a esclerodermia es una de las discapacidades predominantes en dicha patología, tanto en las actividades laborales como en las actividades diarias.<sup>(18)</sup> Llegando a representar el 75% de las discapacidades asociadas a esclerodermia.<sup>(19)</sup>

### **Manifestaciones histopatológicas de la esclerodermia**

En general, la esclerodermia localizada y sistémica comparten características microscópicas similares, aunque pueden estar presentes algunas características diferenciadoras. En ambas, las lesiones tempranas se caracterizan típicamente por un infiltrado linfocítico perivascular y periecrino superficial y profundo, de escaso a moderadamente denso, con un número variable de células plasmáticas y eosinófilos.<sup>(7)</sup> A medida que evolucionan las lesiones, disminuye la inflamación y aumenta la esclerosis con engrosamiento y homogeneización de los haces de colágeno, especialmente en la dermis reticular con extensión para involucrar los septos subcutáneos y la pérdida de estructuras anexas. <sup>(20)</sup> El atrapamiento de las glándulas ecrinas y la pérdida del tejido adiposo circundante son un hallazgo frecuente. Las fibras elásticas generalmente no se ven afectadas.

Aunque generalmente la epidermis suprayacente no se ve afectada, a veces puede mostrar pérdida del patrón de las crestas interpapilares y aumento de la pigmentación de las células basales. <sup>(2)</sup>

Se observan cambios inflamatorios más prominentes y profundos en la esclerodermia localizada (pueden incluso afectar el músculo esquelético subyacente en variantes lineales y generalizadas de la morfea) y la presencia ocasional de calcificación.

Dentro de los cambios vasculares graves en la esclerodermia sistémica (que afectan especialmente a las arterias digitales) se aprecian inflamación de las células endoteliales, engrosamiento de la íntima, hipertrofia de la media y, a veces, depósito de fibrina. <sup>(21)</sup>

El infiltrado inflamatorio perineural predominantemente linfocítico cutáneo en diferentes formas de esclerodermia ha sido bien documentado. <sup>(22)</sup>

La morfea generalizada y la morfea incapacitante pansclerótica de la infancia pueden revelar una paniculitis linfocítica y hialina con formación de folículo linfoide. El "signo flotante", definido como histiocitos que rodean las fibras de colágeno individuales, también se ha descrito raramente en la morfea. <sup>(23)</sup>

Un estudio reciente también demostró la reducción en las células dendríticas CD34 + y factor XIIIa + dérmicas y los vasos sanguíneos en la piel de la esclerosis sistémica, que apareció temprano en el curso de la enfermedad antes de que ocurriera la esclerosis intensa. <sup>(24)</sup>

Recientemente ha habido interés en el tejido adiposo blanco asociado a la dermis en la esclerodermia porque se ha visto que se pierde parcialmente con la fibrosis de la piel.<sup>(25)</sup> Normalmente se localiza predominantemente alrededor de las unidades pilosebáceas formando una geometría en cono, que tiene una porción ubicada en la dermis y la otra la atraviesa para infiltrarse en el tejido subcutáneo; contribuye a la biología de la piel al participar en el ciclo del folículo piloso, la cicatrización de heridas y la defensa antibacteriana. <sup>(26)</sup>

Es poco probable que las biopsias por punción estándar muestren toda la profundidad de la dermis y, por lo tanto, cuantificar el alcance de la pérdida del tejido adiposo blanco es difícil. Sin embargo, Fleischmajer et al. <sup>(27)</sup> realizaron biopsias por escisión que permiten tomar muestras de piel a la capa muscular y observaron que había pérdida del tejido adiposo blanco asociado a la dermis en la esclerodermia sistémica y en la mayoría de los pacientes con esclerodermia localizada. La pérdida del tejido adiposo blanco asociado a la dermis también se observa en modelos de fibrosis dérmica en ratones y los estudios muestran que la pérdida de este tejido adiposo precede al engrosamiento dérmico en el modelo de bleomicina <sup>(27)</sup>

Estudios recientes han sugerido que la pérdida del tejido adiposo blanco asociado a la dermis contribuye directamente a la fibrosis cutánea, debido a que los adipocitos sufren una diferenciación a miofibroblastos. <sup>(27)</sup>

Se ha demostrado que los fibroblastos de la piel de pacientes con esclerodermia producen mayores cantidades de colágeno tipo I y III que los fibroblastos normales <sup>(21)</sup>

A medida que disminuye el edema, las fibrillas de colágeno aumentan en número, las fibras están engrosadas, aproximadas entre sí y más intensamente teñidas por eosina. <sup>(28)</sup>

Para la tinción del colágeno el método del ácido pícrico es el más útil. (Sweat et al. 1964).<sup>(28)</sup> Junqueira y col. (1978) propusieron que los diferentes colores de polarización obtenidos después de la tinción con Picrosirius Red podrían usarse para diferenciar entre colágenos de tipo I, II y III. Los haces de colágeno Tipo I revelan una fuerte birrefringencia con un color amarillo anaranjado y las fibras de colágeno tipo III una birrefringencia verde amarillenta bajo luz polarizada. Las diferencias en los colores de polarización se deben no solo al grosor de la fibrilla sino también al contenido. (Dayan et al. 1989). <sup>(28)</sup>

### **Papel del injerto graso en la esclerodermia**

Detener o revertir la transdiferenciación de adipocitos a miofibroblastos junto con la mejora de la supervivencia de las células estromales derivadas del tejido adiposo y la expresión de citocinas antifibróticas pueden ser vías terapéuticas efectivas. <sup>(26)</sup>

El injerto de grasa autólogo ha ganado recientemente una atención significativa debido a su efectividad para recrear el volumen y mejorar la calidad de la piel. <sup>(11)</sup>

El tejido adiposo tomado mediante liposucción se procesa para obtener adipocitos y células de la fracción vascular del estroma. La inyección de células estromales derivadas del tejido adiposo ADSC o células mesenquimales se está probando como una posible terapia beneficiosa en la esclerodermia localizada y sistémica. <sup>(11)</sup>

La fracción estromal vascular del tejido adiposo (es decir, la fracción no adipocítica) contiene una variedad heterogénea de células madre mesenquimales que incluyen células madre con potencial de diferenciación multilinaje así como células progenitoras de adipocitos y preadipocitos.<sup>(30)</sup> Además del potencial de regeneración tisular, las células estromales derivadas de tejido adiposo tienen propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras, y muestran eficacia en la reducción de la enfermedad de injerto contra huésped y otros modelos de enfermedades autoinmunes e inflamatorias.<sup>(31)</sup> Expresan moléculas antiinflamatorias como el óxido nítrico, indolamina-2,3-dioxigenasa, PGE2 y TGFβ.

Pueden reducir el estrés oxidativo y ser proangiogénicas, ya sea diferenciándose en células endoteliales, secretando factores proangiogénicos, o induciendo a las células mieloides a adoptar un fenotipo proangiogénico.<sup>(32)</sup>

Mientras que los adipocitos proporcionan volumen y mejoran las irregularidades del contorno, y las células endoteliales y vasculares del músculo liso ayudan a la regeneración de los vasos sanguíneos, se ha demostrado que las células madre adiposas modulan el sistema inmunitario, estimulan la angiogénesis, degradan el exceso de matriz extracelular y sufren adipogénesis.

Por lo tanto, el injerto de grasa puede mejorar teóricamente los cambios relacionados con la piel asociados con la esclerodermia.<sup>(11)</sup>

En la esclerodermia sistémica, las células de la fracción del estroma vascular inyectadas en la base de los dedos mostraron efectos prometedores sobre la mano y la función vascular a los 12 meses en un estudio de ensayo no controlado.<sup>(35)</sup>

### **Efecto inmunomodulador del injerto de grasa**

Uno de los mecanismos por los cuales el injerto de grasa puede mejorar los resultados en pacientes con esclerodermia es limitar la inflamación. Los injertos de grasa mitigan la inflamación vascular y aumentan la angiogénesis.<sup>(11)</sup> Las células endoteliales y las células vasculares del músculo liso forman nuevos vasos sanguíneos que proporcionan nutrientes a la grasa recién injertada, y las células madre adiposas proporcionan factores de crecimiento a las células vasculares de forma paracrina.<sup>(32)</sup>

Las células madre adiposas secretan una gran cantidad de citocinas antiinflamatorias que reducen la conversión de fibroblastos en miofibroblastos. Reduce la fibrosis al limitar la deposición de colágeno y proteínas de la matriz extracelular en la piel y los órganos y aumenta la actividad de la colagenasa que degrada la matriz extracelular.<sup>(11)</sup>

Ninguna intervención farmacológica ha demostrado ser efectiva para mejorar las irregularidades del contorno y la lipoatrofia en un ambiente pobremente vascularizado, lo cual es común en pacientes con esclerodermia localizada y sistémica.<sup>(33)</sup> En contraste, el injerto de grasa ha permitido la inmediata corrección

de las irregularidades del contorno y la lipoatrofia, incluso en entornos poco vascularizados.<sup>(33)</sup> Los adipocitos injertados proporcionan soporte estructural para las irregularidades cóncavas, y las células madre adiposas injertadas tienen el potencial de diferenciarse en adipocitos maduros.<sup>(33)</sup>

Las células dentro de la grasa suavizan la piel engrosada y tensa, lo que permite otra ronda de lipoinyección. Por lo tanto, se necesitan rondas adicionales de lipoinyección para primero suavizar la piel y proporcionar suficiente laxitud de la piel para permitir mayores volúmenes de inyecciones de grasa en la segunda ronda.<sup>(11)</sup>

En un estudio experimental realizado por Bo Chen et al (2018, Beijing, China), intentaron analizar los factores relacionados con la lipotransferencia y explorar la viabilidad del injerto graso asistido por células madre para el tratamiento de la esclerodermia localizada.<sup>(37)</sup>

En el estudio se comparó la grasa del donante, el suministro de sangre y el microambiente del sitio del receptor entre pacientes normales y pacientes con esclerodermia localizada, en un modelo de ratón desnudo con esclerodermia. Se analizaron los factores relacionados con la lipotransferencia para la esclerodermia localizada en ratones desnudos con fibrosis cutánea inducida por bleomicina.<sup>(37)</sup>

Dentro de la agrupación experimental tanto los ratones modelo normales como los de esclerodermia se subdividieron en tres grupos: control, lipotransferencia y lipotransferencia asistida por células madre. Los ratones en el grupo control fueron inyectados subcutáneamente con solución salina tamponada con fosfato en su dorso; ratones en el grupo de lipotransferencia fueron inyectados subcutáneamente con 0.3 ml de grasa en su dorso; y ratones en el grupo lipotransferencia asistido por células madre fueron inyectados subcutáneamente con 0.3 ml de grasa más  $1 \times 10^6$  células madre derivadas de tejido adiposo en sus dorsos. Después de 1 mes y 3 meses, se midió la grasa injertada. El modelo de fibrosis cutánea inducida por bleomicina se demostró eficaz en 6 semanas, y el período de seguimiento elegido fue de 1 mes.<sup>(37)</sup>

Un mes después de la lipotransferencia, se eliminó la piel alrededor de los sitios de inyección, se fijó en formalina y se embebió en parafina. Las secciones de

parafina se tiñeron luego con hematoxilina y eosina o con una tinción de tricromo de Masson para poder observar los cambios morfológicos en la piel. La tinción inmunohistoquímica se usó para determinar el nivel de expresión de colágeno tipo III y TGF- $\beta$ 1, que se analizaron mediante métodos semicuantitativos y un sistema de análisis inmunohistoquímico cuantitativo utilizando una región de interés de 3888- $\mu\text{m}^2$  seleccionada al azar de cada corte. Como el marrón representaba positivo, el marrón claro era débilmente positivo, con un valor de intensidad de 1; el café fue positivo, con un valor de intensidad de 2; y el marrón oscuro fue muy positivo, con un valor de intensidad de 3. <sup>(37)</sup>

En el resultado de la histología tisular, el examen histopatológico (tinción de Masson) mostró que la dermis era gruesa y las fibras de colágeno estaban dispuestas de manera desordenada, mientras que la dermis de los ratones desnudos normales era delgada y las fibras de colágeno estaban ordenadas (8)

El índice inmunohistoquímico de colágeno tipo III de ratones desnudos con fibrosis cutánea inducida por bleomicina ( $2629.39 \pm 746.62$ ) aumentó significativamente en comparación con los ratones desnudos normales ( $623.85 \pm 113.84$ ).

En cuanto a los cambios en la textura de la piel después de la lipoinyección, en el seguimiento de 1 mes, en el grupo de ratones desnudos normales, no hubo cambios significativos en el índice inmunohistoquímico de colágeno tipo III y TGF- $\beta$ 1 después del injerto de grasa con o sin células madre derivadas de tejido adiposo. En ratones desnudos con fibrosis cutánea inducida por bleomicina, la calidad de la piel fue 4,2 veces peor en los controles, 2,5 veces peor en el grupo de lipotransferencia y 1,6 veces peor en el grupo de lipotransferencia asistida por células. Estos datos demostraron que en ratones desnudos con fibrosis cutánea inducida por bleomicina, la lipotransferencia con o sin células madre derivadas de tejido adiposo puede reducir la expresión de TGF- $\beta$ 1 y colágeno tipo III, y los efectos de la lipotransferencia asistida por células fueron más significativos.

La textura de la piel y el contenido de colágeno de los ratones desnudos con fibrosis cutánea inducida por bleomicina mejoraron significativamente después de la lipotransferencia asistida por células. <sup>(37)</sup>

### **Tratamiento de la mano en esclerodermia**

Se ha demostrado que el injerto de grasa autólogo en las úlceras digitales es eficaz para acelerar el proceso de cicatrización, con el 80% de las úlceras digitales curadas en 8 a 12 semanas.<sup>(38)</sup> Los pacientes experimentaron una reducción significativa en el dolor de manos después del injerto graso que comenzó tan temprano como 2 semanas después de la lipoinyección.<sup>(38)</sup>

En un estudio piloto, la inyección de las células de la fracción vascular estromal curó todas las úlceras digitales en aproximadamente 4 semanas, sin recurrencia.<sup>(38)</sup>

Otro estudio piloto mostró que las células de la fracción vascular estromal eran seguras, bien toleradas y beneficiosas en términos de dolor y edema de mano, enfermedad de Raynaud, discapacidad de la mano y calidad de vida.<sup>(39)</sup> No hubo recurrencia incluso después de 1 año.<sup>(39)</sup>

Así mismo, durante el año 2018, en el servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital de Especialidades de la UMAE “Dr. Antonio Fraga Mouret”, del Centro Médico Nacional “La Raza” se llevó a cabo un estudio piloto en el que se incluyeron 10 pacientes con esclerosis sistémica, con afección en manos, en etapa fibrótica; cuyo objetivo fue determinar la efectividad de la lipoinyección autóloga en mano para mejorar la función.

Se eligió al azar una de las manos para colocar tratamiento con injerto graso procesado mediante técnica de Coleman y en la otra mano se colocó solución fisiológica. Los pacientes fueron evaluados a los 45 y 90 días después del procedimiento mediante el cuestionario Cochin Hand Functional Scale (CHFS), escala Rodnan modificada para la piel (mRSS), fuerza de prensión con dinamómetro y medición de punta dedo a palma de mano en flexión, concluyendo que existe mejoría significativa en la función de las manos de los pacientes con esclerodermia que fueron tratados con lipoinyección autóloga.

### **Aplicación de injerto graso en otras patologías**

El injerto de grasa autólogo, que Neuber intentó por primera vez en 1893, se ha utilizado para el aumento de tejidos blandos en una amplia gama de cirugías plásticas, reconstructivas y estéticas.<sup>(40)</sup> Rigotti et al. en 1997 utilizaron por



primera vez la inyección de grasa para el tratamiento de la radiodermatitis y la contractura capsular del seno con resultados exitosos.<sup>(41)</sup>

Existen múltiples técnicas quirúrgicas para la corrección de cicatrices. Las más populares son las sustancias de relleno como la grasa autóloga, el ácido hialurónico, el colágeno y las sustancias de relleno permanentes como la silicona.<sup>(41)</sup> De estas, el injerto de grasa autóloga es la más antigua. Se ha utilizado durante mucho tiempo para el aumento de tejidos blandos en cirugía estética y reconstructiva.<sup>(41)</sup>

Se está utilizando ampliamente para reemplazar y reestructurar el volumen facial.<sup>(41)</sup>

Inspirados por estos resultados, se ha aplicado la misma técnica para cicatrices por quemadura con la mejora de las características respecto a la textura de la piel, suavidad y grosor.<sup>(42)</sup>

Las cicatrices por quemaduras representan un modelo valioso para estudiar debido a la presencia constante de fibrosis derivada del daño térmico, lo que conduce a la condición del tejido hipóxico.<sup>(42)</sup>

En un estudio realizado en el Departamento de Cirugía Plástica de la Universidad de Milán, Italia ( Marco Klinger MD, et al, 2013) .<sup>(43)</sup> Se incluyeron un total de 694 pacientes consecutivos en 6 años de experiencia, todos presentaban cicatrices retráctiles y dolorosas que comprometían la actividad / movilidad diaria regular de la articulación involucrada. El abdomen y las áreas trocántereas representan sitios donantes preferibles dado el acceso más fácil a cantidades abundantes de tejido adiposo. El tejido adiposo se tomó utilizando la técnica de Coleman. La fracción de tejido adiposo 1 ml de injerto de grasa para un área de 3.5 cm<sup>2</sup> de superficie de la cicatriz se insertó en la unión dermo hipodérmica en todos los casos.

En todos los pacientes se evaluó la presencia de cicatrices retráctiles y dolor en la evaluación clínica preoperatoria y después del procedimiento quirúrgico a los 5 y 14 días, y a los 1, 3, 6 y 12 meses Como resultados, en todos los casos tratados, la mejora de la calidad de la piel se mostró tanto desde el punto de vista estético como funcional. El injerto de grasa autólogo permitió que la piel se volviera más

suave, más flexible y extensible, y muy a menudo el color era similar a la piel ilesa circundante.<sup>(43)</sup>

El examen histológico muestra patrones de nueva deposición de colágeno, hipervascularidad local e hiperplasia dérmica en el contexto de tejido nuevo, con una alta correspondencia con el original.<sup>(43)</sup>

En el Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional La Raza se llevó a cabo un estudio clínico experimental del 1° de agosto de 2016 al 1° de agosto de 2017, cuyo objetivo fue evaluar los cambios clínicos e histológicos del lecho quirúrgico con aplicación de injerto graso en pacientes post mastectomizadas con radiodermatitis. El estado isquémico crónico del tejido radiado representó la justificación para la aplicación de la terapia de células madre derivadas del tejido adiposo. Los beneficios del injerto graso parecen estar basados en la liberación de factores de crecimiento angiogénicos y anti-apoptóticos, lo cual facilita el reclutamiento de células progenitoras endoteliales para formación de nuevos vasos sanguíneos, promoviendo la neovascularización de tejidos isquémicos.

Se incluyeron un total de 8 pacientes con un rango de edad de 18 a 60 años, con diagnóstico de secuelas de mastectomía y el antecedente de radioterapia en el lecho quirúrgico. Durante el primer procedimiento quirúrgico se tomó una muestra de piel de la zona afectada. Se evaluaron los cambios histopatológicos antes del tratamiento con injerto graso, los capilares mostraron duplicación de la membrana basal, su lumen es ectático y las células endoteliales muestran abundante citoplasma, vesículas micropinocíticas, y cuerpos de Weibel-Palade. Los adipocitos muestran lisosomas en la mitocondria. En el tejido conectivo la acumulación de colágeno y detritos celulares es visible. Estos cambios sugieren una causa isquémica de las radiolesiones, similar a algunos patrones de esclerodermia.

Cuatro a seis meses después del tratamiento, se realizó una nueva biopsia de la zona afectada, para su análisis histopatológico, donde se encontraron muy pocas células en el tejido conectivo, el cual parece bien hidratado, con muy poca colágena, los adipocitos son normales, los microcapilares exhiben una estructura normal con un muy poco porcentaje de vasos que muestran reduplicación de la membrana basal.

En los resultados, de un total de 8 pacientes estudiadas, el 87.5% presentó mejoría clínica e histopatológica. 100% de las pacientes presentaron mejoría en la duplicación de la membrana basal; 75% mejoría en la fibrosis; 87.5% mejoría de las células inflamatorias y de la alteración capilar.

### III. MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo, reporte de casos, cuasi experimental, transversal, analítico y abierto. El estudio se realizó en el servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva ubicado en el Hospital de Especialidades de la UMAE “Dr. Antonio Fraga Mouret”, del Centro Médico Nacional “La Raza”. Del Instituto Mexicano del Seguro Social. Se utilizó un solo grupo de estudio, pacientes con esclerosis sistémica, con afección en manos, en etapa fibrótica de la enfermedad, con algún nivel de afección cutánea valorada con el índice de Rodnan modificado y que adicionalmente, hayan aceptado el tratamiento con injerto graso autólogo y participado en el estudio piloto previo con N° de registro R-2018-3501-103 donde se valoró clínicamente la mejoría funcional de la mano. Se tomó una biopsia de piel de la mano antes del tratamiento y una biopsia de piel de la misma mano 90 días después de la lipoinyección. Los criterios de inclusión, exclusión y eliminación se observan en la **Tabla 1**.

*Tabla 1. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.*

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Criterios de eliminación
Ambos sexos, mayores de 18 años	Riesgo quirúrgico alto	Alta voluntaria antes de realizar el procedimiento
Diagnóstico establecido de Esclerodermia/ Esclerosis Sistémica. Etapa fibrótica	Infección activa o úlceras en manos	Pacientes que no acudan a la toma de biopsia a los 90 días posteriores al injerto graso
Afección en mano moderado/severo que incluya dorso de la mano y dedos (Rodnan 3-5 puntos)	Afección en manos en etapa edematosa o atrófica	
Participantes del estudio piloto “Efectividad de la lipoinyección autóloga en mano para mejorar la función en pacientes con esclerodermia”, R-2018-3501-103	Pacientes embarazadas	
Disponibilidad y acceso al expediente clínico electrónico.		
Sin ajuste de tratamiento sistémico para la esclerodermia en los últimos 3 meses.		

## Descripción del estudio

1. Se llevó a cabo en el servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza, se reunieron pacientes que cumplían los criterios de inclusión. Posterior a la aceptación de participación y de firmar el consentimiento informado, se programaron a los pacientes incluidos en el estudio.
2. Todos los pacientes se sometieron a estudios y valoraciones pre quirúrgicas de rutina.
3. Se evaluaron a los pacientes con la escala de Rodnan para evaluar el tejido de la mano. Se tomó la biopsia de piel inicial de la mano que fue elegida para recibir el tratamiento con injerto graso autólogo
4. Una vez en quirófano de cirugía ambulatoria, se delimitó con marcador para piel el área donde se planeó tomar la biopsia cutánea inicial (dorso de la mano seleccionada para recibir el injerto graso).
5. Bajo técnica estéril, previa asepsia y antisepsia con isodine del sitio quirúrgico, se aplicó anestesia local mediante infiltración de 2 cc de Lidocaina con epinefrina 2% en la región proximal del dorso de la mano seleccionada. Se dio latencia de 3 minutos.
6. Completado el tiempo de latencia, se inició la toma de biopsia cutánea mediante incisión de 4 mm de diámetro con hoja de bisturí N° 15, la cual incluyó epidermis, dermis y tejido celular subcutáneo; la muestra se fijó con solución de formalina al 10% para el examen histológico.
7. A través de la misma incisión, se realizó la lipoinyección de la fracción de tejido adiposo en la unión dermohipodérmica con técnica para microinjerto, un volumen total de 40 ml aproximadamente, distribuidos en el dorso de la mano, espacios interdigitales dorsales, dorso de los dedos.
8. La incisión de la toma de biopsia se suturó con punto simple de nylon 4/0, se lavó la mano con solución. Se dejó un vendaje oclusivo no compresivo.
9. Después de la fijación de las biopsias cutáneas en formalina al 10% durante 12 horas, cumpliendo con los requisitos expuestos en el **Anexo 2**, las muestras

fueron enviadas al laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza”.

10. Se procesaron rutinariamente por inclusión en parafina, de acuerdo a lo descrito en el **Anexo 3**. Las muestras fueron divididas en secciones de cuatro micrómetros y teñidas con hematoxilina y eosina; así como con la tinción tricrómica de Masson, siguiendo el protocolo histológico descrito en el **Anexo 4 y 5** respectivamente, posteriormente fueron evaluadas por un mismo patólogo independiente.

11. Se registraron los datos y se compararon los hallazgos histológicos con los encontrados en las biopsias cutáneas realizadas a los 90 días del procedimiento quirúrgico.

12. A los 7 días, posterior a la realización del procedimiento. Se citó al paciente para valorar la evolución del evento quirúrgico y retirar material de sutura del sitio de toma de biopsia. En caso de que el paciente presentara alguna complicación inmediata al procedimiento, datos de infección o celulitis se manejaría con antibiótico de amplio espectro y toma de cultivo de ser necesario. En casos de complicaciones como dolor, equimosis y parestesias, se manejaría de forma sintomática.

13. Posterior a los 90 días del procedimiento quirúrgico, se citó al paciente para realizar nuevamente la toma de biopsia de piel del dorso a nivel del primer espacio interdigital de la mano previamente tratada con el injerto graso autólogo, con la técnica quirúrgica descrita anteriormente. Dicha muestra se fijó en fomalina al 10% para su análisis histológico.

14. Fue enviada al laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza”, cumpliendo con el protocolo descrito en el **Anexo 2**.

15. Las muestras se procesaron por inclusión en parafina de acuerdo a lo descrito en el **Anexo 3**, fueron divididas en secciones de cuatro micrómetros y teñidas con hematoxilina y eosina; así como con tinción tricrómica de Masson, siguiendo el protocolo histológico descrito en el **Anexo 4 y 5** respectivamente.

16. Se evaluó desde un nivel microscópico los cambios histopatológicos producidos por el injerto graso sobre la zona receptora y se compararon con los hallazgos encontrados en las biopsias cutáneas iniciales. Este análisis fue llevado a cabo por el mismo patólogo independiente.

17. La revisión y lectura de las laminillas histológicas fue “a ciegas”, el patólogo involucrado no poseía información sobre el día de toma de muestra, número de registro o cualquier dato que pudiera direccionar la interpretación de los resultados.

18. En cada biopsia de piel mediante microscopía electrónica se examinaron los parámetros establecidos en el estudio para inflamación, compromiso vascular y fibrosis.

19. Los parámetros de inflamación y alteraciones vasculares (distribución, densidad y composición del infiltrado inflamatorio; grosor de la dermis; presencia de calcificación; la alteración, densidad, forma y tamaño de los vasos sanguíneos) fueron valorados bajo la tinción Hematoxilina-Eosina. Mientras que para evaluar la deposición de colágeno y fibrosis se utilizó la tinción Tricrómica de Masson.

20. Posteriormente se confrontaron las bases de datos y se analizaron los resultados.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa IBM SPSS v 26 (USA). Para la expresión de resultados se emplearon tablas y gráficas. Las variables cuantitativas fueron evaluadas con medidas de tendencia central; mientras que las variables cualitativas fueron estudiadas con frecuencias y porcentajes. La comparación entre variables cuantitativas se analizó mediante t-Student. En cuanto a la relación o cambios en aspectos cualitativos entre el periodo pre y post injerto se realizó la comparación con la prueba de Chi-cuadrada de Pearson. Se consideró valor estadístico significativo cuando  $p < 0.05$

#### IV. RESULTADOS

Se atendieron 10 casos de esclerodermia con injerto graso autólogo, de los cuales el total (100%) eran mujeres con una edad promedio de  $52.4 \pm 9.52$  años con un tiempo de diagnóstico promedio de  $17.6 \pm 9.7$  años. La distribución de la población estudiada conforme a la edad fue normal según la prueba de Shapiro-Wilk ( $p=0.08$ ). Cuyas características somatométricas se resumen en la **Tabla 2**.

**Tabla 2. Características somatométricas**

	Media	DE
Talla (m)	1.549	$\pm 0.028$
Peso (kg)	61.67	$\pm 14.63$
IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	25.69	$\pm 6.1$

Tres pacientes (30%) tenían la primaria concluida, cuatro (40%) con nivel secundaria, un paciente (10%) con nivel medio superior, una persona (10%) con nivel técnico de enfermería y una (10%) con nivel de licenciatura de enfermería. Cinco de las pacientes estudiadas (50%) eran amas de casa, dos (20%) comerciantes, una (10%) asistente y dos (20%) estaban retiradas. Y en cuanto al estado civil siete de las pacientes (70%) estaban casadas, dos (20%) solteras y una (10%) viuda.

Todas las pacientes (100%) estaban en fase esclerótica, de las cuales 7 casos eran de tipo difusa (70%) y 3 limitada (30%). De los casos atendidos, en la mitad se atendió la mano derecha (50%) y la otra mitad la mano izquierda (50%); empleando un volumen promedio de injerto graso de  $26 \pm 5$  ml. En la **Tabla 3** se muestra el comparativo de los resultados de las biopsias antes y después del tratamiento con injerto graso autólogo.

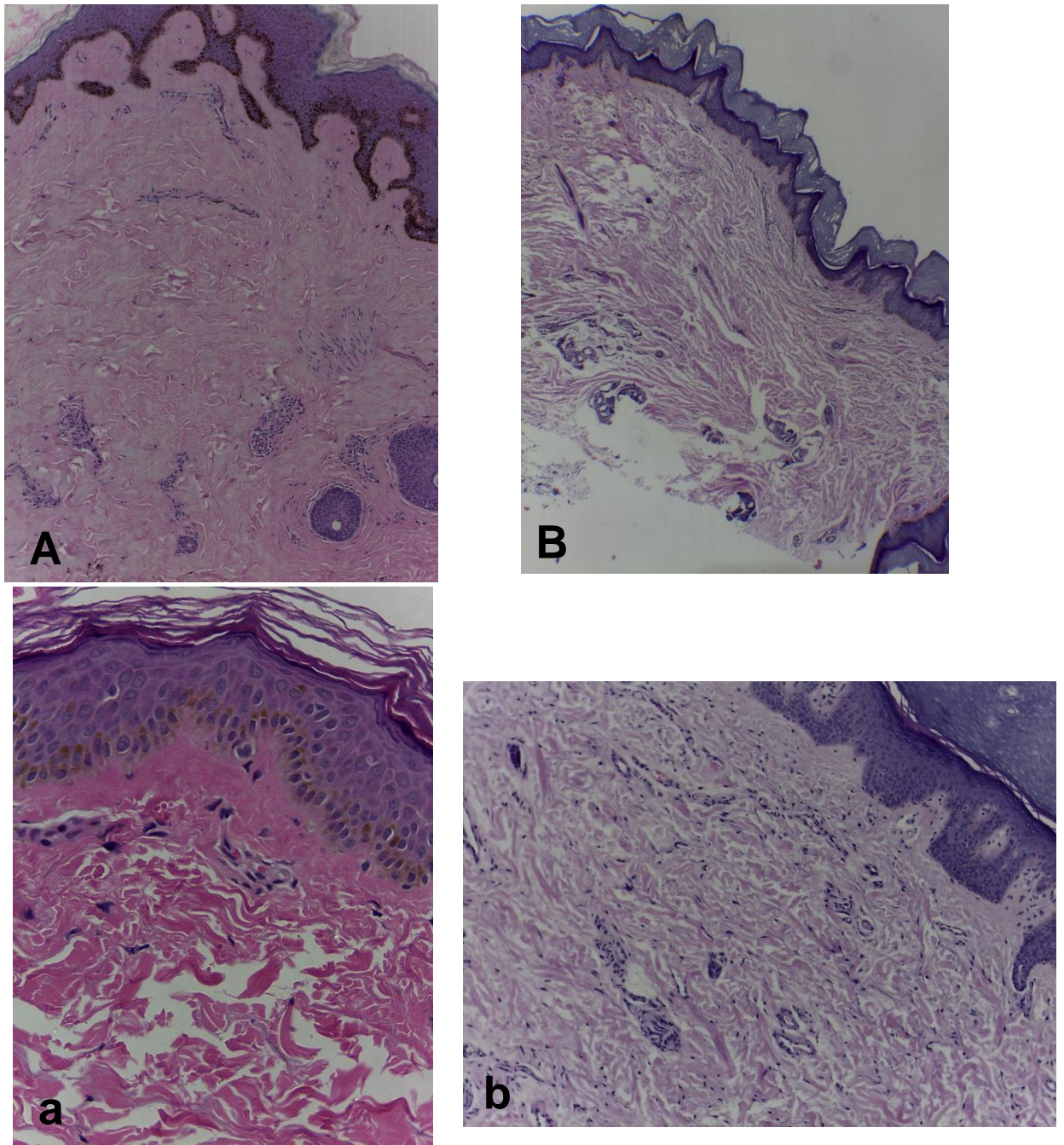
**Tabla 3. Análisis de la biopsia cutánea**

Aspecto evaluado	Previo al injerto graso	Posterior al injerto graso
<i>Fibrosis papilar</i>		
Ausente	2	0
Leve	3	7
Moderado	5	3
<i>Fibrosis reticular</i>		
Escaso	2	0
Leve	3	8
Moderado	3	2
Abundante	2	0
<i>Deposición de colágeno</i>		



<i>Leve</i>	4	2
<i>Moderado</i>	4	8
<i>Abundante</i>	2	0
<i>Grosor de la dermis</i>		
<i>Inalterado</i>	8	10
<i>Moderadamente engrosado</i>	1	0
<i>Severamente engrosado</i>	1	0
<i>Infiltrado inflamatorio</i>		
<i>Ausente</i>	3	1
<i>Escaso</i>	7	9
<i>Distribución del infiltrado inflamatorio</i>		
<i>Intersticial</i>	5	2
<i>Perianexial</i>	1	1
<i>Unión dérmica subcutánea</i>	1	1
<i>Composición del infiltrado</i>		
<i>Fibroblastos-linfocitos</i>	1	0
<i>Linfocitos</i>	5	7
<i>Células plasmáticas</i>	1	1
<i>Adipocitos</i>	0	1
<i>Linfocitos-adipocitos</i>	0	1
<i>Calcificación</i>		
<i>Ausente</i>	10	10
<i>Tamaño de vasos sanguíneos</i>		
<i>Normal</i>	10	10
<i>Dilatación</i>		
<i>Sin dilatación</i>	10	10
<i>Ramificación</i>		
<i>No</i>	6	4
<i>Simple</i>	4	6
<i>Estrechamiento del calibre vascular</i>		
<i>Si</i>	5	0
<i>No</i>	5	10
<i>Engrosamiento de células endoteliales</i>		
<i>Si</i>	3	1
<i>No</i>	7	9
<i>Hipertrofia del musculo liso</i>		
<i>Si</i>	2	1
<i>No</i>	8	9
<i>Depósito de fibrina</i>		
<i>Si</i>	1	0
<i>No</i>	9	10
<i>Perdida de endotelio</i>		
<i>Si</i>	0	0
<i>No</i>	10	10
<i>Destrucción de membrana basal</i>		
<i>Si</i>	1	0
<i>No</i>	9	10
<i>Depósito de colágeno en subíntima</i>		
<i>Si</i>	1	0
<i>No</i>	9	10

En las **Figuras 1 a 4** se muestran el comparativo de los hallazgos histológicos de las biopsias tomadas antes y después del tratamiento con injerto graso autólogo.



*Fig 1. Comparación de los cambios histopatológicos observados en la piel de la mano de dos pacientes diferentes con esclerodermia sistémica, producidos por efecto del injerto de grasa autóloga. Tinción con Hematoxilina-Eosina. **A)** y **a)** Previo al tratamiento con injerto graso autólogo. Se aprecia engrosamiento y homogeneización de haces de colágeno, tanto en la dermis papilar como en la dermis reticular. **B)** y **b)** Posterior a 90 días de aplicado el injerto graso autólogo. Se observa mejor organización de los haces de colágeno en la dermis papilar y reticular; correspondiente con Fibrosis leve.*

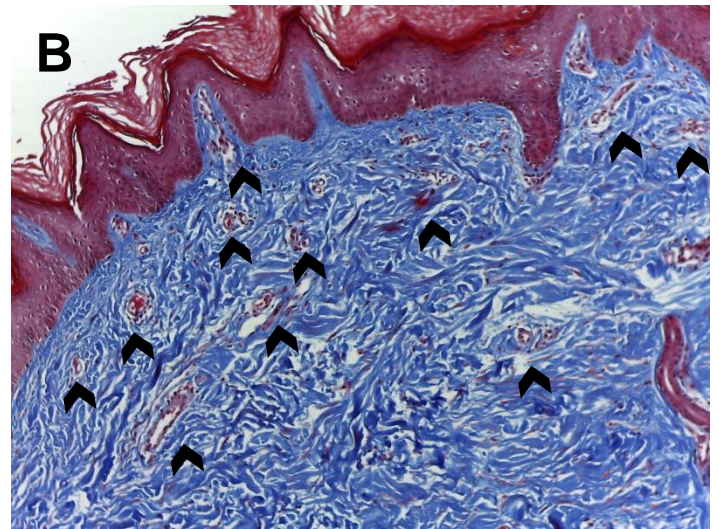
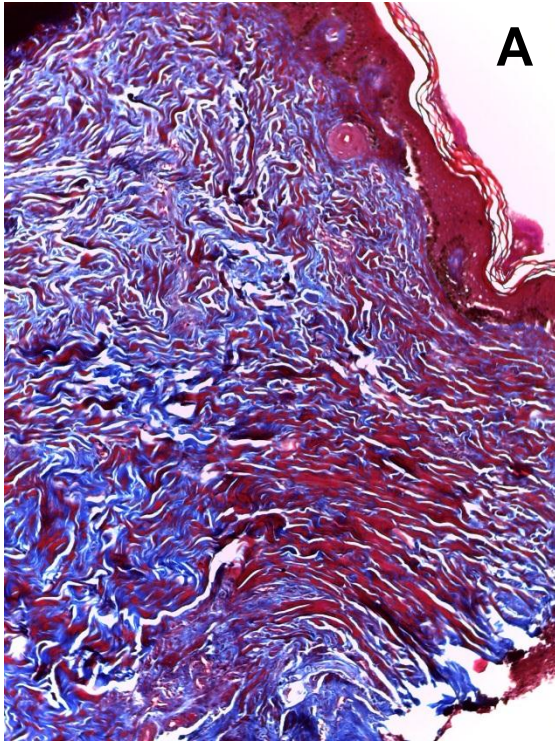


Fig 2. Comparación de los cambios histopatológicos observados en la piel de la mano de una paciente con esclerodermia sistémica, producidos por efecto del injerto de grasa autóloga. **A)** Previo al tratamiento con injerto grasa autólogo. **B)** Posterior a 90 días de aplicado el injerto grasa autólogo. La Tinción Tricrómico de Masson permite visualizar con mayor especificidad los haces de colágeno mejor organizados (teñidos de azul) y fibroblastos (teñidos de rojo). Aumento en el número de vasos sanguíneos en la dermis (flecha).

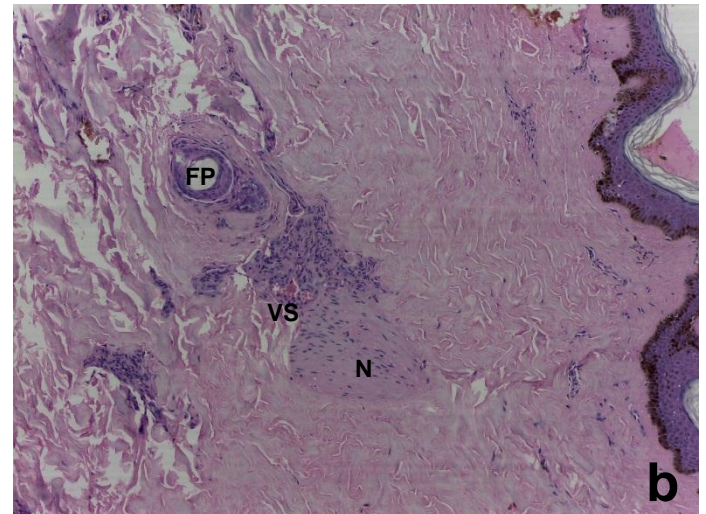
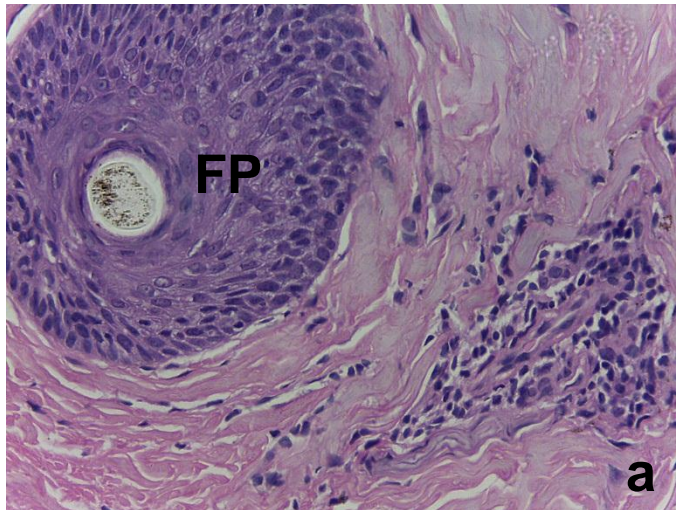
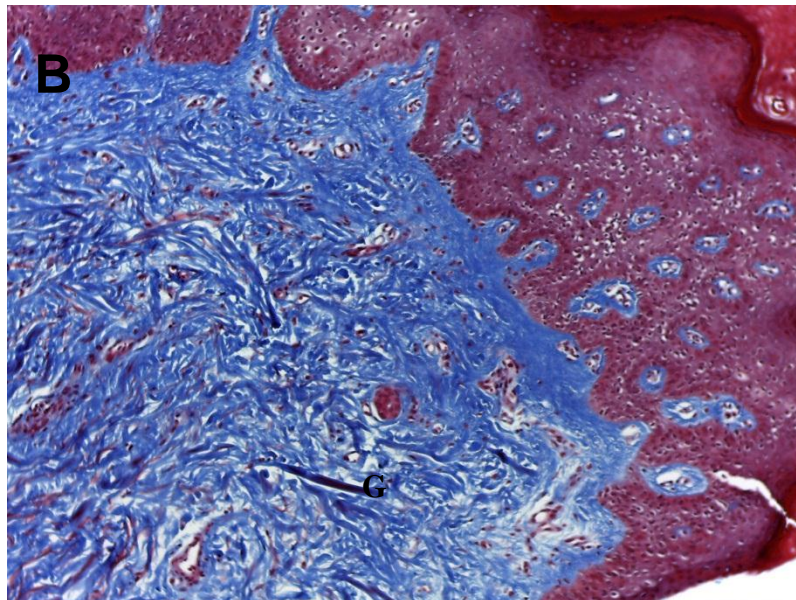
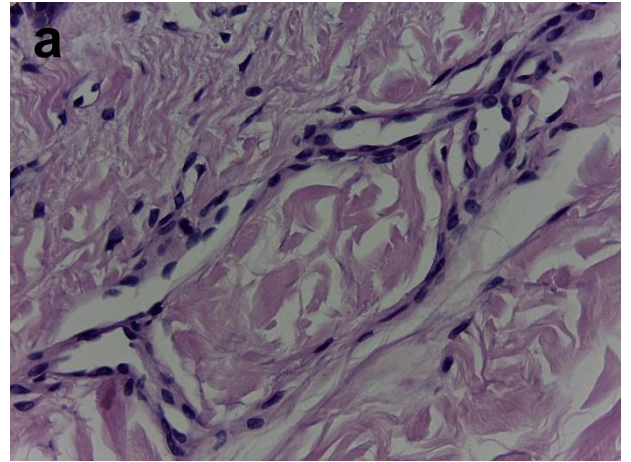
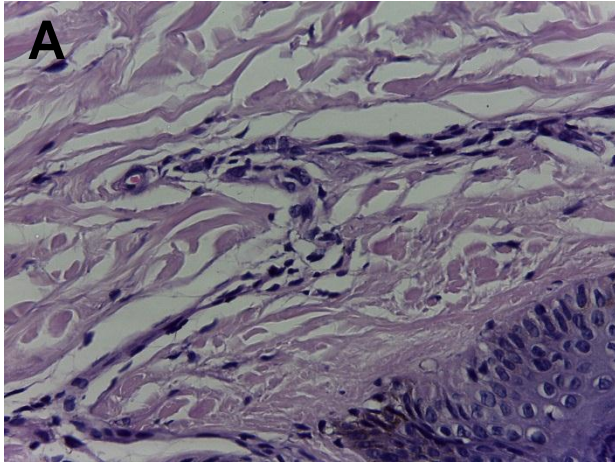


Fig. 3. Corte histológico de la biopsia de piel de la mano de paciente con esclerodermia sistémica tomada previo al tratamiento con injerto grasa autólogo donde se observa el Infiltrado inflamatorio constituido principalmente por linfocitos y células plasmáticas, con una distribución **a)** Perianexial (Folículo piloso); **b)** Perivascular.y perineural. Se aprecia atrapamiento del folículo piloso con fibrosis. Tinción Hematoxilina-Eosina. **FP:** Folículo piloso, **VS:** Vaso sanguíneo, **N:** Nervio



*Fig 4. Evaluación histológica de la de piel de la mano de paciente con esclerodermia sistémica posterior a 90 días del tratamiento con injerto graso autólogo donde se valora la Angiogénesis. Tinción **A)** y **a)** Hematoxilina-Eosina. Se observa la ramificación de vasos sanguíneos **B)** Tricrómico de Masson. Proliferación de vasos sanguíneos de neoformación. **G:** Glándula ecrina.*

Posteriormente se realizó un análisis entre el puntaje de la escala de Rodnan obtenido en la biopsia previamente y posterior al injerto; así como de la cantidad de los vasos sanguíneos observados por campo al microscopio (**Tabla 4 y Figura 5**).

**Tabla 4. Comparación de puntaje Rodnan y vascularidad**

	Previo al injerto graso	Posterior al injerto graso	p
Puntaje dorso	1.9 ±0.73	1.4 ±0.51	0.096
Puntaje falange	2.5 ±0.52	1.6 ±0.51	0.001
Puntaje total	4.4 ±1.17	3 ±0.94	0.008
Vasos sanguíneos por campo	15.4 ±3.7	35.1 ±5.7	<0.0001

\*Se expresa media y desviación estándar

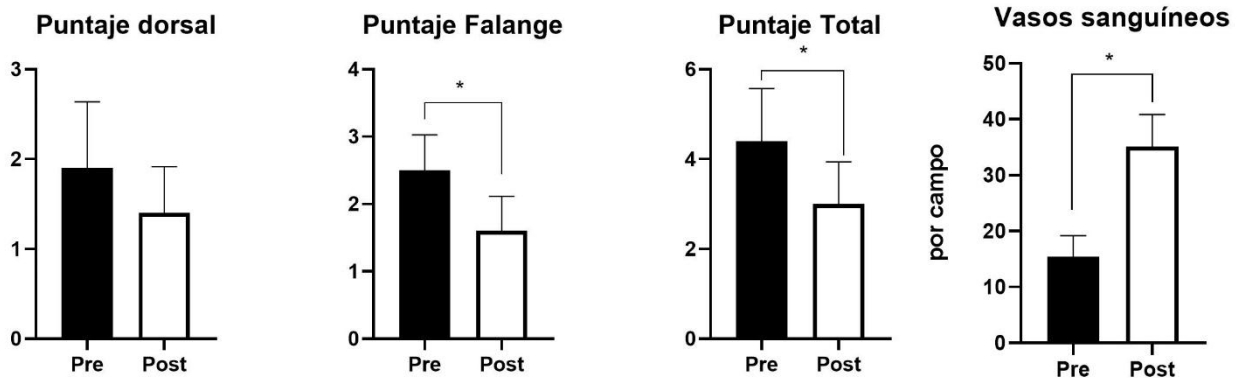


Figura 5. Comparación del puntaje de la escala Rodnan previa y posterior a la aplicación del injerto graso autólogo. También se incluye los cambios en la vascularización. \* =  $p < 0.05$

Finalmente, se realizó un análisis para comparar si hubo cambios entre la etapa previa y posterior al tratamiento con injerto graso autólogo en las características evaluadas mediante microscopía y mencionadas previamente (Tabla 5).

**Tabla 5. Análisis comparativo**

Aspecto evaluado	p
Fibrosis papilar	0.129
Fibrosis reticular	0.091
Deposición de colágeno	0.135
Grosor de la dermis	0.329
Infiltrado inflamatorio	0.264
Distribución del infiltrado	0.218
Composición del infiltrado	0.215
Calcificación	-
Tamaño de vasos sanguíneos	-
Dilatación	-
Ramificación	0.371
Estrechamiento del calibre vascular	<b>0.01</b>
Engrosamiento de células endoteliales	0.264
Hipertrofia del musculo liso	0.136
Depósito de fibrina	0.305
Perdida de endotelio	-
Destrucción de membrana basal	0.305
Depósito de colágeno en subíntima	0.305

## V. DISCUSIÓN

La esclerodermia es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por inflamación que progresa gradualmente a fibrosis de la piel y los órganos internos, lo que resulta en daños devastadores. Limitar la progresión de la enfermedad, revertir la fibrosis y la atrofia en pacientes con esclerodermia es esencial.<sup>(11)</sup>

El injerto de grasa autólogo ha ganado recientemente una atención significativa debido a su efectividad para recrear el volumen y mejorar la calidad de la piel. <sup>(11)</sup>

El porcentaje de células madre que contiene el injerto graso, es claramente mayor que la médula ósea, y su uso no crea problemas éticos tan controvertidos como lo hacen las células madre embrionarias.<sup>(44)</sup>

El tejido adiposo obtenido mediante liposucción se procesa para producir adipocitos y células de la fracción estromal vascular, compuestos a su vez por una mezcla de células madre adiposas, células endoteliales, células del músculo liso vascular y células inmunes. Los adipocitos proporcionan volumen y mejoran las irregularidades del contorno; las células endoteliales y vasculares del músculo liso ayudan a la regeneración de los vasos sanguíneos; mientras que las células madre adiposas modulan el sistema inmunitario, estimulan la angiogénesis, degradan el exceso de matriz extracelular y sufren adipogénesis. <sup>(30)</sup>

Por lo tanto, el injerto graso puede mejorar teóricamente los cambios relacionados con la piel asociados con la esclerodermia.<sup>(11)</sup>

El objetivo del presente estudio fue determinar los cambios histopatológicos que produce el injerto graso autólogo en la piel de la mano de pacientes con esclerodermia, evaluando microscópicamente los procesos patológicos: inflamación, compromiso vascular y fibrosis de la piel en el sitio receptor 90 días después del tratamiento. De esta manera determinar el mecanismo por el cual el injerto de grasa mejora los resultados observados clínicamente y altera la progresión de la enfermedad.

La razón para realizar este procedimiento es su asociación con una baja morbilidad, una satisfacción buena a excelente a corto y largo plazo, la disponibilidad inmediata de material para lipoinyecciones repetidas y la falta de un material superior.

Como se puede observar en nuestro estudio, la edad promedio de los casos analizados se encontraban en la sexta década de la vida, lo cual es ligeramente superior a otros estudios realizados en países de América latina.<sup>(6)</sup> Sin embargo, existen algunos estudios como uno desarrollado en Barcelona y en Venezuela que señalan que la edad promedio de los pacientes con esclerodermia es superior a los 50 años.<sup>(49)</sup> Lamentablemente no se encontró un estudio en población mexicana con el cual comparar nuestros resultados respecto a la edad.

En cuanto a los años promedio que los pacientes tienen con el diagnóstico de esclerodermia indicado en otros estudios es similar a lo que se ha observado y descrito en nuestro estudio de serie de casos. Además de ser una patología de mayor incidencia en mujeres como lo observamos en nuestro estudio. <sup>(1,6)</sup> De forma similar el análisis respecto al resto de variables sociodemográficas estudiadas en el presente estudio no pudo ser comparado con otros estudios debido a que no hay estudios epidemiológicos en población latina que haya realizado un análisis similar al presentado en este estudio.

Ahora bien, en relación al uso del injerto graso autólogo como tratamiento de la esclerodermia en manos, se muestra una mejora en la severidad de la enfermedad determinado por el puntaje obtenido en la escala de Rodnan modificada y un proceso de revascularización significativo, así como un aumento en el calibre de los vasos sanguíneos generados. Lo cual suma resultados a la serie de casos reportados sobre la mejora tisular que se obtiene con la aplicación de injerto graso para la atención de lesiones de esclerodermia.<sup>(44)</sup>

Las ventajas del uso del injerto graso autólogo es que se reducen las reacciones adversas, siendo que el presente tejido puede ser obtenido directamente del paciente como en nuestro estudio o bien obtenido del cultivo de células madre.<sup>(10)</sup> Incluso no se presentan en un 50% de los casos tratados con injertos de grasa recurrencia de las lesiones.<sup>(11)</sup>

Sin embargo, en comparación con otros estudios que han reportado que existe cambios en el aspecto inflamatorio, esto no fue observado en nuestro estudio; lo cual puede ser debido a que los mecanismos fisiológicos activados por el injerto graso varían en la zona receptora.<sup>(8)</sup>

Se caracterizó desde un nivel microscópico el sitio receptor lo que permite comprender cómo los factores de crecimiento secretados por los injertos de grasa modulan el microambiente, que luego pueden generalizarse a otros procesos de enfermedades reumatológicas e inflamatorias.

Queda por dilucidar el momento óptimo para aplicar el injerto de grasa; es decir, si se debe realizar temprano en el proceso de la enfermedad, antes del compromiso vascular o después de que las irregularidades del contorno sean evidentes.



## **VI. CONCLUSIÓN**

El injerto graso autólogo en mano de pacientes con esclerodermia mejora el tejido a nivel histológico y favorece la revascularización de la zona de lesión con vasos que se caracterizan por presentar un adecuado calibre.

De esta manera, al mejorar el suministro de sangre a la dermis, tiene el potencial de mejorar la difusión de medicamentos sistémicos al sitio objetivo y retrasar la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, el injerto de grasa puede proporcionar beneficios al principio del proceso de la enfermedad y puede usarse junto con terapias sistémicas.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Foti R, Leonardi R, Rondinone R, et al. Scleroderma-like disorders. *Autoimmun Rev.* 2008;7:331–339.
2. Ossama Abbas, MD, Jag Bhawan, MD. Sclerosing Disorders of the Skin: An Overview With Focus on Histopathological Features. *Am J Dermatopathol.* 2014; 36:763–780
3. Montgomery H, O’Leary PA, Ragsdale WE Jr. Dermatohistopathology of various types of scleroderma. *AMA Arch Derm.* 1957;75:78.
4. Peterson LS, Nelson AM, Su WP. Classification of morphea (localized scleroderma). *Mayo Clin Proc.* 1995; 70:1068–1076.
5. Van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2013; 65:2737–2747
6. Chiffлот H, Fautrel B, Sordet C, Chatelus E y Sibia J. Incidence and prevalence of Systemic sclerosis: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum.* 2008; 37:223-225.
7. Fleischmajer R, Perlish JS, West WP. Ultrastructure of cutaneous cellular infiltrates in scleroderma. *Arch Dermatol.* 1977;113:1661–1666
8. Lafyatis R, Farina A. New insights into the mechanisms of innate immune receptor signalling in fibrosis. *Open Rheumatol J.* 2012;6:72–79
9. Lafyatis R. Transforming growth factor  $\beta$ : At the centre of systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol.* 2014;10:706–719.
10. Artlett CM. The IL-1 family of cytokines: Do they have a role in scleroderma fibrosis? *Immunol Lett.* 2018; 195:30–37.
11. Amy L. Strong, M.D., Ph.D. J. Peter Rubin, M.D. Jeffrey H. Kozlow, M.D., M.S. Paul S. Cederna, M.D. Fat Grafting for the Treatment of Scleroderma. *Plast. Reconstr. Surg.* 2019; 114:1498-1507
12. Kahaleh B. Vascular disease in scleroderma: Mechanisms of vascular injury. *Rheum Dis Clin North Am.* 2008; 34:57–71

13. Yalcinkaya Y, Cinar S, Artim-Esen B, et al. The relationship between vascular biomarkers and disease characteristics in systemic sclerosis: Elevated MCP-1 is predominantly associated with fibrotic manifestations. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34(Suppl 100):110–114
14. Perlish JS, Lemlich G, Fleischmajer R. Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. *J Invest Dermatol*. 1988; 90:48–54.
15. Careta MF, Romiti R. Localized scleroderma: Clinical spectrum and therapeutic update. *An Bras Dermatol*. 2015;90:62–73.
16. Rencic A, Goyal S, Mofid M, Wigley F, Nousari HC. Bullous lesions in scleroderma. *Int J Dermatol*. 2002; 41:335–339.
17. Crincoli V, Fatone L, Fanelli M, et al. Orofacial manifestations and temporomandibular disorders of systemic scleroderma: An observational study. *Int J Mol Sci* 2016; 17:E1189.
18. Mouthon L, Carpentier PH, Lok C, et al. Ischemic digital ulcers affect hand disability and pain in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2014; 41:1317–1323
19. Morrisroe KB, Nikpour M, Proudman SM. Musculoskeletal manifestations of systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2015; 41:507–518.
20. Montgomery H, O’Leary PA, Ragsdale WE Jr. Dermatohistopathology of various types of scleroderma. *AMA Arch Derm*. 1957;75:78.
21. Torres, Jorge E. M.D.; Sanchez, Jorge L. M.D. Histopathologic Differentiation Between Localized and Systemic Scleroderma. *Am J Dermatopathol*. 1998; 20(3):242-5
22. Succaria F, Kurban M, Kibbi AG, et al. Clinicopathological study of 81 cases of localized and systemic scleroderma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27: e191-e196.
23. Perez-Chua TA, Kisel YG, Chang KH, et al. Morphea and its variants and the “floating sign” an additional finding in morphea. *Am J Dermatopathol*. 2013:1-6.
24. Ana P. de-Sá-Earp, MD, MSc, Adriana P. do Nascimento, PhD, Sueli C. Carneiro, PhD, Luís C. Porto, PhD, Andréa Monte-Alto-Costa, PhD. Dermal Dendritic Cell Population and Blood Vessels Are Diminished in the Skin of

- Systemic Sclerosis Patients: Relationship With Fibrosis Degree and Disease Duration. *Am J Dermatopathol*, 2013;35:438–444
25. Varga J, Marangoni RG. Systemic sclerosis in 2016: dermal white adipose tissue implicated in SSc pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol* 2017; 13:71–72.
  26. Roberta G. Marangoni, Theresa T. Lu. The roles of dermal white adipose tissue loss in scleroderma skin fibrosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2017; 29:585–590
  27. Fleischmajer R, Perlish JS, Reeves JR. Cellular infiltrates in scleroderma skin. *Arthritis Rheum* 1977; 20:975–984.
  28. Nobuhiro Yamamoto, Shoji Nishioka, Yoichiro Sasai. Polarization microscopic investigation of collagen and acid glycosaminoglycans in the skin of progressive systemic sclerosis (PSS). *Acta histochem*. 1995; 97:195-202
  29. Chia JJ, Zhu T, Chyou S, et al. Dendritic cells maintain dermal adipose-derived stromal cells in skin fibrosis. *J Clin Invest* 2016; 126:4331–4345
  30. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13:4279–4295
  31. Yañez R, Lamana ML, Garcí'a-Castro J, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells* 2006; 24:2582–2591.
  32. Janeczek Portalska K, Leferink A, Groen N, et al. Endothelial differentiation of mesenchymal stromal cells. *PLoS One* 2012; 7:e46842.
  33. Yoshimura K, Suga H, Eto H. Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen Med* 2009; 4:265–273.
  34. Scuderi N, Ceccarelli S, Onesti MG, et al. Human adipose-derived stromal cells for cell-based therapies in the treatment of systemic sclerosis. *Cell Transplant* 2013; 22:779–795.
  35. Guillaume-Jugnot P, Daumas A, Magalon J, et al. Autologous adipose-derived stromal vascular fraction in patients with systemic sclerosis: 12-month follow up. *Rheumatology (Oxford)* 2016; 55:301–306.

36. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007;110:3499–3506.
37. Bo Chen, M.D. Xiaojun Wang, M.D. Xiao Long, M.D. Mingzi Zhang, M.D. Jiuzuo Huang, M.D. Nanze Yu, M.D. et al. Supportive Use of Adipose-Derived Stem Cells in Cell-Assisted Lipotransfer for Localized Scleroderma. *Plast. Reconstr. Surg.* 2018; 141:1395-140
38. Bene MD, Pozzi MR, Rovati L, Mazzola I, Erba G, Bonomi S. Autologous fat grafting for scleroderma-induced digital ulcers: An effective technique in patients with systemic sclerosis. *Handchir Mikrochir Plast Chir.* 2014;46:242–247.
39. Granel B, Daumas A, Jouve E, et al. Safety, tolerability and potential efficacy of injection of autologous adipose-derived stromal vascular fraction in the fingers of patients with systemic sclerosis: An open-label phase I trial. *Ann Rheum Dis.* 2015; 74:2175–2182. 38
40. Ataru Sunaga, MD, Yasushi Sugawara, MD, Yoko Katsuragi-Tomioka, MD, Eiji Kobayashi, MD, PhD. The Fate of Nonvascularized Fat Grafts: Histological and Bioluminescent Study. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2013;1:e40
41. Mi Ryung Roh, MD, Jin Young Jung, MD, Kee Yang Chung, MD, PhD. Autologous Fat Transplantation for Depressed Linear Scleroderma-Induced Facial Atrophic Scars. *Dermatol Surg.* 2008; 34:1659–1665
42. Yu-Wen Chen, PhD, Tabita Timeea Scutaru, MD, Nicolae Ghetu, MD, PhD, Eugen Carasevici, PhD, Cristian Dumitru Lupascu, MD, PhD, Dan Ferariu, MD, PhD, et al. The Effects of Adipose-Derived Stem Cell-Differentiated Adipocytes on Skin Burn Wound Healing in Rats. *J Burn Care Res.* 2017;38:1–10
43. Marco Klinger, MD, Fabio Caviglioli, MD, Francesco Maria Klinger, MD, Silvia Giannasi, MD, Valeria Bandi, MD, Barbara Banzatti, MD, et al. Autologous Fat Graft in Scar Treatment. *J Craniofac Surg.* 2013;24: 1610-1615
44. Giuseppe Consorti, MD, Riccardo Tieghi, MD, Luigi C. Clauser, MD, DMD. Frontal Linear Scleroderma: Long-Term Result in Volumetric Restoration of the Fronto-Orbital Area by Structural Fat Grafting. *J Craniofac Surg.* 2012; 23 (3):263-265

45. Joshua M. Cohen, MD, Rachel A. Sibley, MD, Ernest S. Chiu, MD, Sheel Sharma, MD. Advances in Upper Extremity Scleroderma Wound Care. *Adv Skin Wound Care*. 2018;31:446–55.
46. Byron Andrés Sarabia Tipán. Análisis histológico del proceso de cicatrización de heridas dérmicas provocadas a cobayos (*cavia porcellus*) en bioterio, en función del tiempo. Ecuador, Quito. Universidad Central del Ecuador, Marzo 2018; 1-67.
47. Ibrahim Fakih Gómez, Adrián Sánchez Balado, Elena Lorda Barraguer. Ultrasonografía cutánea: una herramienta objetiva para la toma de decisiones tras desbridamiento enzimático en pacientes quemados. *Cir. plást. Iberolatinoam*. 2019; 45(1): 73-80
48. Verónica Garra, Natalia Danese, Martín Rebella, Ernesto Cairolí. Capilaroscopia en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes sistémicas. *Rev Méd Urug* 2012; 28(2):89-98
49. Romero MCI, Oliver M, Reyes O, Bell-Smythe A, González N, Ortiz W, et al. Esclerodermia localizada estudio clínico y epidemiológico. Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela. *Dermatología Venezolana*. 2015;52(1).

## VIII. ANEXOS

### FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha de Elaboración: \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_ NSS: \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Género: M \_\_\_\_ F \_\_\_\_

Estado civil: \_\_\_\_\_ Escolaridad: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_

Talla: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_

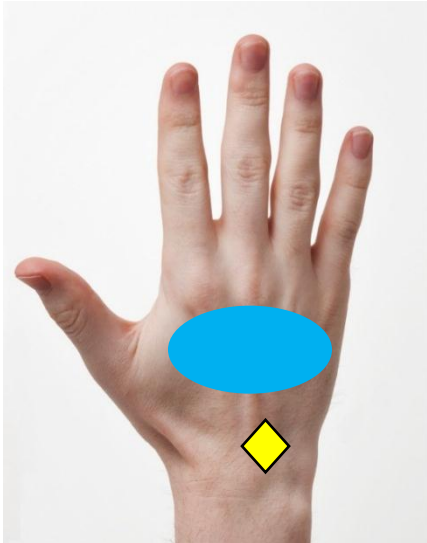
Tiempo de diagnóstico: \_\_\_\_\_

Fase de afección en mano: Edematosa \_\_\_\_\_ Esclerótica \_\_\_\_\_ Atrófica \_\_\_\_\_

MEDICAMENTOS		MARCADORES	LABORATORIOS
PREDNISONA	CELECOXIB	ANA	Albumina
MICOFENOLATO	DICLOFENACO	AntiScl-70	Creatinina
METROTEXATE	PARACETAMOL	TOPOISOMERASA I	Hb
LEFLUNOMIDA	IBUPROFENO	ANTICENTROMERO	
SULFAZALACINA	ASA	ARN POLIMERASA I Y III	
AZATIOPRINA	NAPROXENO	ANCA	
PENICILAMINA		aCL-IgG	
CICLOFOSFAMIDA		aCL-IgM	
COLCHICINA		Otros	
CQ/HCQ			
OTROS			

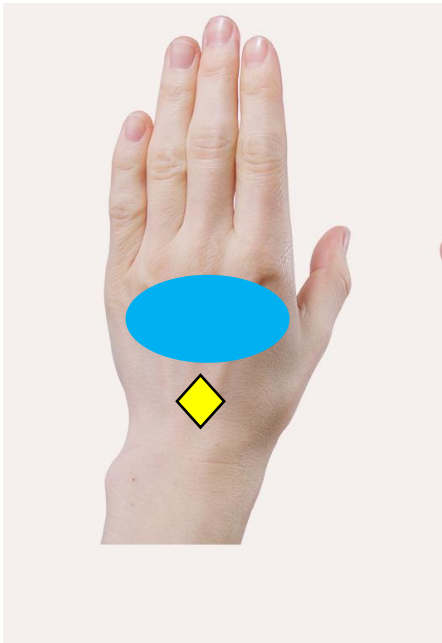
**MANO Y SITIO DE TOMA DE BIOPSIA DE PIEL PREVIO AL INJERTO GRASO**

**VOLUMEN DE INJERTO GRASO INYECTADO:  
MANO DERECHA:**



◆ SITIO DE TOMA DE BIOPSIA CUTÁNEA

**MANO IZQUIERDA:**





**MANO Y SITIO DE TOMA DE BIOPSIA DE PIEL A LOS 90 DÍAS POSTERIORES AL INJERTO GRASO :**

**MANO DERECHA:**



◆ SITIO DE TOMA DE BIOPSIA CUTÁNEA

**MANO IZQUIERDA:**



## FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha de la toma de biopsia cutánea: \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_ NSS: \_\_\_\_\_  
 Edad: \_\_\_\_\_ Género: M \_\_\_ F \_\_\_

Momento de toma de biopsia cutánea:

\_\_\_\_\_ Previo a la colocación del injerto graso autólogo

\_\_\_\_\_ Posterior a 90 días del injerto graso autólogo

Mano donde se toma la biopsia cutánea: Derecha: \_\_\_\_\_ Izquierda: \_\_\_\_\_

### HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

**FIBROSIS:** PRESENTE \_\_\_\_\_ AUSENTE \_\_\_\_\_

DERMIS PAPILAR	
Escaso	
Leve	
Moderado	
Abundante	

DERMIS RETICULAR	
Escaso	
Leve	
Moderado	
Abundante	

#### DEPOSICIÓN DE COLÁGENO

Escaso	
Leve	
Moderado	
Abundante	

#### GROSOR DE LA DERMIS

Inalterado	
Moderadamente engrosado	
Severamente engrosado	

#### DENSIDAD DEL INFILTRADO INFLAMATORIO

Ausente		Escaso		Moderado		Severo	
---------	--	--------	--	----------	--	--------	--

#### DISTRIBUCIÓN DEL INFILTRADO INFLAMATORIO

Perivascular		Intersticial	
Perianexial		Unión dérmico-subcutáneo	

#### COMPOSICIÓN DEL INFILTRADO INFLAMATORIO / CELULAR:

Linfocitos		Eosinófilos	
Polimorfonucleares		Fibroblastos / Miofibroblastos	
Células plasmáticas		Adipocitos	
Mastocitos			

**CALCIFICACIÓN:** PRESENTE \_\_\_\_\_ AUSENTE: \_\_\_\_\_

**N° DE VASOS SANGUÍNEOS** (10 campos al 40X) \_\_\_\_\_

**DENSIDAD DE LA VASCULATURA**

Grado		
0		Sin áreas avasculares
1	Leve	1 o 2 áreas avasculares x campo
2	Moderada	>2 áreas avasculares x campo
3	Severo	Grandes áreas avasculares confluentes

**TAMAÑO DE LOS VASOS SANGUÍNEOS**

Normal	< 25 µm	
Dilatados	25-50 µm	
Megacapilares	<50 µm	

**FORMA DE LOS VASOS SANGUÍNEOS**

Sin dilatación	5-10 µm	
Dilatación moderada	4-10 veces lo normal	
Dilatación extrema	> 10 veces lo normal	

Ramificación	
Simple	
En trébol	
En almena	

**ALTERACIÓN EN LOS VASOS SANGUÍNEOS**

Estrechamiento de la luz	
Inflamación o engrosamiento de cél. endoteliales	
Hipertrofia del músculo liso	

Depósito de fibrina	
Pérdida del endotelio	
Destrucción de la membrana basal	
Depósito de colágeno en la subíntima	

## ANEXO 1 ESCALA DE RODNAN MODIFICADA (mRSS)

### Puntaje por cada área cutánea evaluada

- **mRSS= 0** Es “una piel normal”, donde el examinador aprecia arrugas finas pero no hay presencia de engrosamiento en la piel
  
- **mRSS= 1** Es definido como un verdadero engrosamiento de la piel aunque sea “leve”, donde el examinador puede fácilmente formar un pliegue de piel entre los dos dedos, son visibles finas arrugas.
  
- **mRSS= 2** Es definido como “moderado” engrosamiento de la piel, donde es difícil realizar un pliegue de piel entre los dedos para el examinador. No se visualizan arrugas.
  
- **mRSS= 3** Es definido como “severo” engrosamiento de la piel, donde no es posible realizar un pliegue de piel entre los dedos para el examinador.

## **ANEXO 2**

### **Protocolo de laboratorio de histopatología para envío de muestras**

**Obtención del material:** Se efectúa mediante biopsia.

**Rotulación:** El envase de envío se debe constar con los siguientes datos:

- Nombre y número de seguridad social del paciente
- Identificación de pieza anatómica
- Diagnóstico clínico
- Fecha de toma de muestra
- Nombre del médico responsable y del servicio de procedencia

**Fijación y preservación de la muestra:**

Se debe sumergir el tejido en relación 1:10 con formol bufferado al 10%.

**Transporte de muestras:**

- Temperatura: Las muestras histológicas pueden ser transportadas a temperatura ambiente siempre y cuando estén fijadas.
- Envase: El recipiente debe ser de vidrio o plástico de boca ancha y bien rotulada.
- Personal: La entrega de las muestras la realizan los investigadores entregando un registro

### **ANEXO 3**

#### **Protocolo de procesamiento de muestras**

**Corte:** Se realiza una descripción macroscópica de la muestra recibida y se procede a realizar cortes del tejido, siguiendo el plano transversal.

**Procesamiento de tejido:** Consta de los siguientes pasos:

- Formol al 10%
- Agua 3x10 minutos
- Deshidratar con alcohol al 70% 3 x 10 minutos
- Deshidratar con alcohol al 90% 3 x 10 minutos
- Deshidratar con alcohol al 96% 3 x 10 minutos
- Deshidratar con alcohol al 100% 3 x 10 minutos
- Aclarar en xileno o Neo clear® 3 x 10 minutos
- Inclusión en parafina líquida por 1 hora
- Inclusión en parafina líquida por 1 hora
- Inclusión en parafina líquida por 2 horas

#### **Inclusión del tejido o formación del bloque.**

En el equipo de inclusión que debe estar previamente encendido se colocan los cassetes en la bandeja.

- Se retira la tapa del cassette
- Se revisa el tamaño de la muestra para poder seleccionar el molde adecuado
- En el molde adecuado se dispensa parafina
- Debe enfriarse la base para colocar el tejido
- Fijar el tejido en la parafina, cuidando que todo se encuentre a la misma altura, para evitar problemas el momento del corte
- Colocar el cassette que contiene la identificación de la muestra
- Enfriar en la plancha fría a -1 °C
- Retirar el molde metálico con cuidado, evitando que se dañe el bloque de tejido.

#### **Protocolo de desbaste, corte y pesca de muestras histológicas.**

- Desbaste de la muestra, retirar el exceso de parafina de los alrededores del bloque
- Igualar la muestra de tejido en el micrótopo, eliminando el exceso de parafina sobre este.
- Colocar en hielo .
- Cortar las muestras, el grosor será de 4 micras.
- En el baño maría colocar la cinta de tejido, seleccionar el tejido libre de: burbujas, artefactos, sin rupturas.
- Sumergir la placa de manera vertical, con la identificación hacia adelante, y retirar el fragmento de tejido, lento y evitando que se rompa, a este procedimiento se lo denomina pesca.
- Colocar la placa en la plancha caliente previamente estabilizada a 86°C.
- Al terminar colocar las muestras en una gradilla e introducirle por 30 minutos en la estufa a 60°C.
- Colorear las placas.

## **ANEXO 4**

### **Protocolo de tinción de Hematoxilina-Eosina para estudio histológico**

- Desparafinizar el tejido con xilol 30 min
- Hidratar con alcohol al 100% por 10 min
- Hidratar con alcohol al 80% por 10 min
- Hidratar con alcohol al 50% por 10 min
- Sumergir en Agua destilada 3 inmersiones
- Hematoxilina de Mayer 3 minutos
- Lavar en agua corriente
- Sumergir 2 veces en agua ácida
- Lavar en agua corriente 1 min
- Sumergir 6 veces en Eosina (2 minutos)
- Lavar en agua corriente
- Deshidratar con alcohol al 50% por 10 min
- Deshidratar con alcohol al 80% por 10 min
- Deshidratar con alcohol al 100% por 10 min
- Aclarar en xilol por 10 min
- Dejar secar la placa
- Coloca unas gotas de medio de montaje.
- Aplicar el cubreobjetos sobre la preparación.
- Listo para su observación en el microscopio

#### **Resultados:**

- Citoplasma: rosado.
- Núcleos: azul oscuro o púrpura.
- Colágeno: rosa pálido.
- Músculo: rosa fuerte.
- Queratina: rojo intenso.
- Eritrocitos: color cereza.

## **ANEXO 5**

### **Protocolo de tinción “Tricrómica de Masson” para estudio histológico**

- Desparafinizar el tejido con xileno 30 min
- Hidratar con alcohol al 100% por 10 min
- Hidratar con alcohol al 80% por 10 min
- Hidratar con alcohol al 50% por 10 min
- Sumergir en Agua destilada 3 inmersiones
- Sumergir las placas en solución de Bouin por una hora a una temperatura de 56 °C o toda la noche a temperatura ambiente
- Dejar enfriar por 10 minutos
- Lavar en agua corriente hasta que se aclare el tejido.
- Colocar en Hematoxilina de Weigert por 15 minutos.
- Lavar en agua corriente durante 1 hora. Enjuagar en agua destilada
- Sumergir en la Solución de Fuscina ácida- escarlata de Biebrich durante 15 minutos.
- Diferenciar con la solución de ácido fosfomolibdico por 15 minutos.
- Colocar en azul de anilina durante 5 minutos
- Lavar en agua corriente.
- Colocar en ácido acético al 1 % por 5 minutos.
- Deshidratar con alcohol al 50% por 10 inmersiones
- Deshidratar con alcohol al 80% por 10 inmersiones
- Deshidratar con alcohol al 100% por 10 inmersiones
- Aclarar en xileno 15 inmersiones
- Dejar secar la placa
- Colora unas gotas de medio de montaje.
- Aplicar el cubreobjetos sobre la preparación.
- Listo para su observación en el microscopio

### **Resultados**

- Citoplasma, músculo y queratina: rojo
- Núcleos: negro
- Fibras de colágeno: azul.



## HOJA DE EVENTOS ADVERSOS

Debido a que la toma de biopsia cutánea es un procedimiento quirúrgico, se han reportado en la literatura complicaciones asociadas.

Varias de dichas complicaciones pueden estar relacionadas a la falta de seguimiento de protocolos de seguridad ya establecidos para la realización del proceso. Por lo que en este estudio, el riesgo de dichas complicaciones son mínimas por el hecho de la necesidad de recolectar una mínima cantidad de piel.

Se enumeran las posibles complicaciones y procesos de seguimiento y corrección de cada una de ellas en caso de presentarse durante el proceso del estudio.

- a) **Celulitis o infección:** Dicha complicación se presenta en menos del 1% de los casos, la presentación se aprecia enrojecimiento, aumento de temperatura, posible salida de material purulento. Fiebre. Dolor. Si el paciente presenta dicha complicación, se iniciará con tratamiento antibiótico empírico, se existe material para realizar cultivo se enviará a cultivo con antibiograma para dar manejo específico de infección. Se dará seguimiento hasta la resolución del cuadro.
- b) **Dolor y equimosis:** Dicha complicación se presenta en aproximadamente el 5% de los pacientes en el área donadora, es directamente relacionado al sangrado por la toma de la biopsia y del injerto graso. El manejo es sintomático con analgésico, y se espera resolución a las 2 semanas de la realización del procedimiento.