

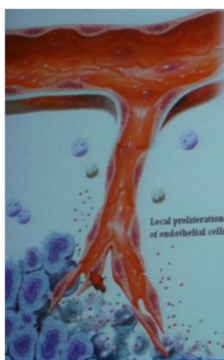
MEDICINA REGENERATIVA POR TRASPLANTE CELULAR (STEM CELLS) EN LA OBSTRUCCIÓN ARTERIAL SEVERA EN EXTREMIDADES INFERIORES

El 30% de los pacientes con isquemia severa de miembros inferiores (ISMI) por oclusión arterial, no son candidatos a revascularización con derivaciones arteriales y/o procedimientos endovasculares y la evolución natural de la enfermedad es hacia la progresión con dolor en reposo, úlceras, gangrena, sepsis y amputación.

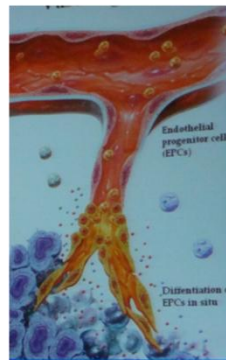


Se ha demostrado en experimentos “*in vitro*” e “*in vivo*” que la “célula endotelial progenitora” (CEP) de la médula ósea induce angiogénesis y vasculogénesis, (neo-circulación), presentando en su superficie celular los antígenos CD34+, CD31+, CD133+ y Flk-1 procediendo de los angioblastos y éstos de los hemangioblastos de la médula ósea y que para la formación eficiente de una red de nuevos vasos sanguíneos se requiere de la “colaboración” de las células mesenquimales que presentan en la superficie los antígenos CD90+, CD75+, CD105+

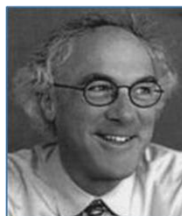
Se consideran células progenitoras o células madre.



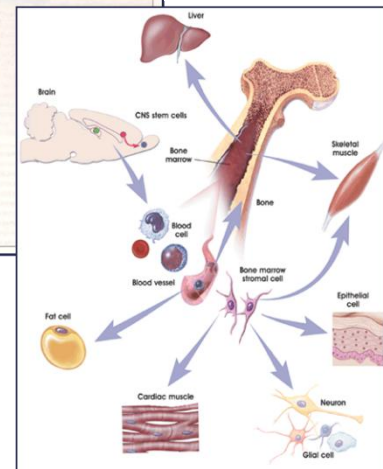
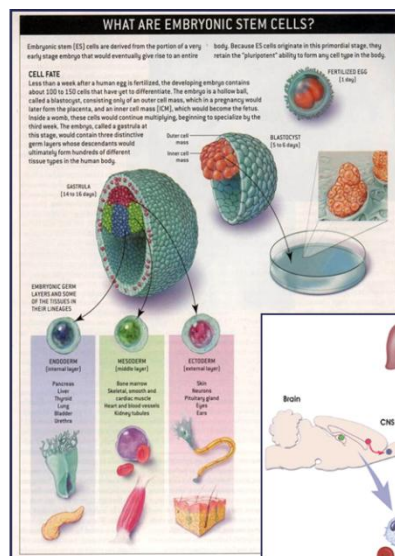
angiogénesis



vasculogénesis



Asahara T., Isner F.M. *et al.*,
Insolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis
 Science 275:964-967., 1997



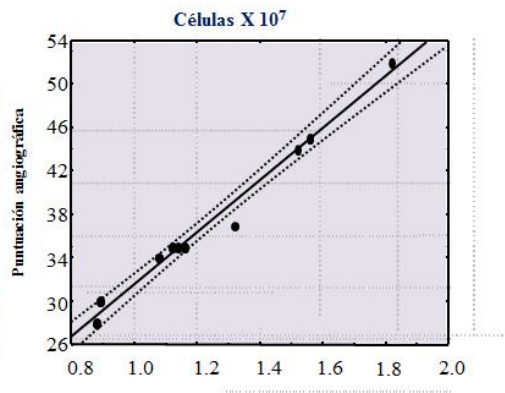
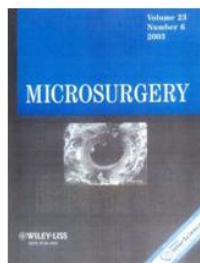
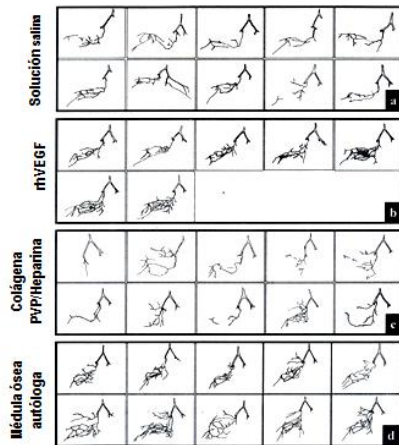
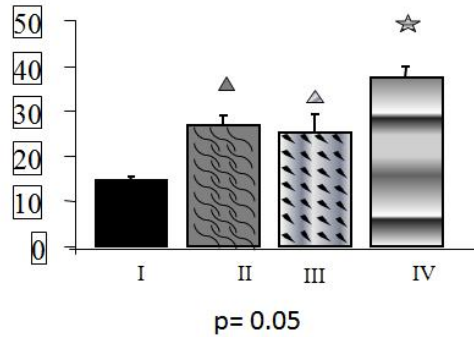
Utilizando un modelo de isquemia muscular en ratas (2003), nuestro grupo demostró que puede inducirse neo-vascularización o angiogénesis efectiva al trasplantar Células Mononucleares (CMN), (CD34+ y CD133+), derivadas de la médula ósea en túneles musculares fibrocolágenos, utilizados como “andamiaje” para facilitar la supervivencia y la diferenciación celular.

ADMINISTRATION OF BONE MARROW CELLS INTO SURGICALLY INDUCED FIBROCOLLAGENOUS TUNNELS INDUCES ANGIOGENESIS IN ISCHEMIC RAT HINDLIMB MODEL

LUIS PADILLA, M.D.,^{1,2} EDGAR KRÖTZSCH, Ph.D.,²
 PAUL SCHALCH, M.D.,¹ GIEGFRIED FIGUEROA, M.D.,²
 ADRIANA MFRANCA, M.D.,² ENRIQUE ROJAS, M.D., Ph.D.,²
 SANDRO ESPERANTE, M.D.,² FERNANDO VILLEGAS, M.D.,²
 ANABEL S. DE LA GARZA, M.D.,² AND
 MAURICIO DI SILVIO, M.D.¹

We established a comparative model of angiogenic induction in previously formed fibrocollagenous tunnels in rat inner thigh muscles. A unilateral hindlimb chronic ischemia model was performed in male Sprague-Dawley rats. A device was then inserted in the central portion of the inner thigh muscles. Vascularity in the ischemic limb was determined by means of an angiographic score, capillary:fiber ratio, and endothelial proliferation by histochemistry and immunohistochemistry. Autologous transplant of bone marrow, vascular endothelial growth factor (VEGF), or collagen-poly(hydroxyethylmethacrylate) plus heparin induced significant vascularization of the ischemic hindlimb when compared to saline solution. However, the bone marrow group presented a higher angiographic score than the other two. No differences among groups were observed in capillary:fiber ratio or proliferation, except for the VEGF group, where capillary proliferating cells were significantly higher than in controls. Based on these results, bone marrow-derived progenitor cells may constitute a safe and viable alternative for the induction of therapeutic angiogenesis.

© 2003 Wiley-Liss, Inc.
MICROSURGERY 23:568-574 2003



En otro estudio experimental (2007), en perros con modelo de isquemia muscular en la extremidad inferior, corroboramos que movilizándolo las CMN a la sangre periférica aplicando el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y trasplantándolas en túneles musculares fibrocolágenos, incrementamos significativamente la angiogénesis en comparación al trasplante celular sin G-CSF.

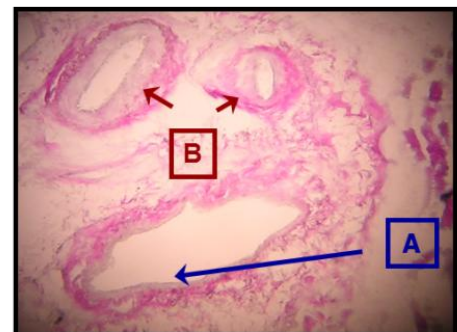
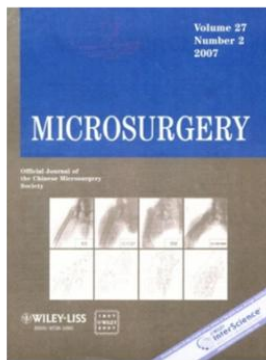
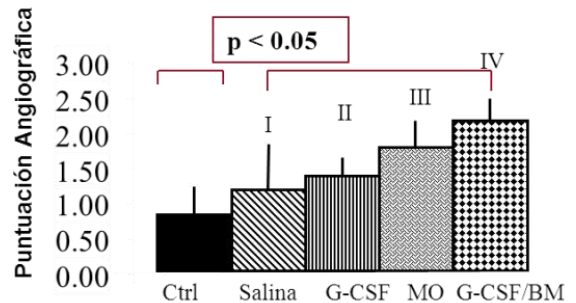
BONE MARROW MONONUCLEAR CELLS STIMULATE ANGIOGENESIS WHEN TRANSPLANTED INTO SURGICALLY INDUCED FIBROCOLLAGENOUS TUNNELS: RESULTS FROM A CANINE ISCHEMIC HINDLIMB MODEL

LUIS PADILLA, M.D.,^{1,2,3*} EDGAR KRÖTZSCH, Ph.D.,⁴ ANABEL S. DE LA GARZA, M.D.,¹ SIEGFRIED FIGUEROA, M.D.,¹ JUAN RODRIGUEZ-TREJO, M.D.,² GERARDO ÁVILA, M.D.,³ PAUL SCHALCH, M.D.,¹ IGNACIO ESCOTTO, M.D.,² GERMÁN GLENNE, D.V.M.,⁵ FERNANDO VILLEGAS, M.D.,² and MAURICIO DI SILVIO, M.D., F.A.C.S.,¹

Progenitor cell transplantation has been considered as a potential angiogenesis therapy for the ischemic hindlimb; in this work we performed an ischemic hindlimb model in dogs. We ligated the middle sacra and the external right iliac arteries. After 7 days, the femoral artery was ligated and removed, and three Silastic® tubes were inserted into the gracilis muscle to create fibrocollagenous tunnels. After Silastic® implantation, we administered saline or granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) subcutaneously daily during 5 days. Fourteen days after device positioning we transplanted bone marrow mononuclear cells (BMMC) into the tunnels previously formed by Silastic® tube resection. Twenty-eight days later, contrasted angiographies were performed and angiographic scores were calculated. Also, vessels and endothelial cells and proliferating cells were identified by immunohistochemistry of muscle sections. Results demonstrated that BMMC transplantation enriched by G-CSF administration significantly stimulates angiogenesis in the ischemic hindlimb, and more than BMMC transplantation alone. Transplantation of progenitor cells in an appropriate extracellular matrix is a potential therapy for hindlimb ischemia. © 2006 Wiley-Liss, Inc. *Microsurgery* 27:91–97, 2007.

© 2006 Wiley-Liss, Inc. *Microsurgery* 27:91–97, 2007.

	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV
Perro 1				
Perro 2				
Perro 3				
Perro 4				
Perro 5				



Con los antecedentes experimentales en animales, obtuvimos la autorización de los Comités de Investigación y Ética del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, para iniciar un estudio clínico controlado en seres humanos.

Se evaluaron 20 extremidades de 14 pacientes con ISMI Fontaine II-b Rutherford 3, no candidatos a revascularización arterial y cirugía endovascular, que cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaron participar en el estudio.

Los pacientes fueron divididos en dos grupos:

Grupo A. *Diez pacientes con trasplante de CMN por vía intramuscular e intravenoso retrógrado distal (vena safena).*

Grupo B. *Diez pacientes con trasplante de CMN por vía intramuscular.*

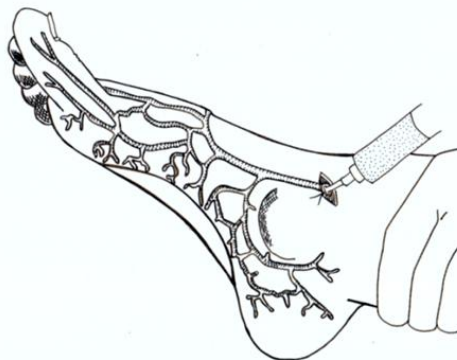
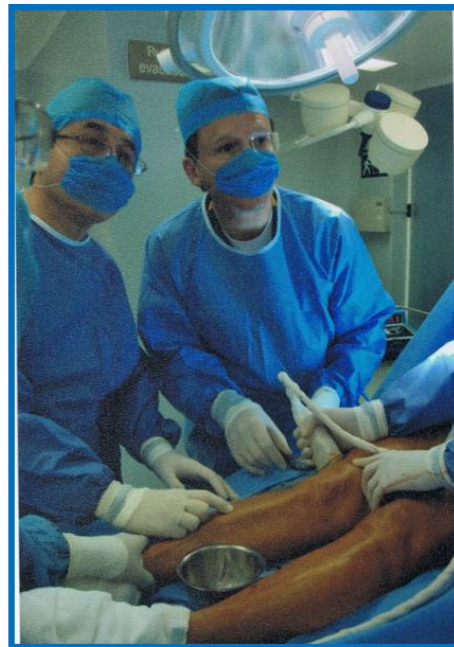
TÉCNICA DE COSECHA CELULAR

Para la movilización de las CMN de la médula ósea al torrente sanguíneo se aplicaron 5µg de G-CSF Neupogen (Roche –México) vía subcutánea durante 5 días. El 5to día por catéter venoso se practicó el procedimiento de aféresis utilizando una máquina COBE-Spectra de flujo continuo Auto PBSC obteniendo un volumen final de 60 ml.

El número total de células trasplantadas por extremidad fue de $15 \times 10^8 \pm 5 \times 10^8$ CD³⁴⁺, para el Grupo No. 1 y $17.4 \times 10^8 \pm 8 \times 10^8$ CD³⁴⁺ en el caso del Grupo No. 2.

TÉCNICA QUIRÚRGICA

Bajo anestesia regional y sedación ligera utilizando la aguja de catéter BD Insyte (16GA-1.77IN) (17 x 45 mm), se practican punciones en los compartimentos musculares guiados por ultrasonido. Los 60 mL de concentrado celular por extremidad se distribuyen de la siguiente manera: 10 mL en vasto interno, 10 mL en vasto externo, 10 mL compartimento muscular tibial anterior, 10 mL compartimento muscular posterior profundo y 10 mL en compartimento muscular posterior superficial. Como parte final del procedimiento quirúrgico se localiza la vena safena interna a nivel del maléolo interno, se practica una pequeña incisión y se disecciona el vaso refiriéndolo con catgut crómico 3-0, se liga la vena proximalmente y se hace una pequeña incisión aplicando un catéter BD Insyte (16GA-1.77IN) (17 x 45 mm), a través del cual se realiza una heparinización regional retrógrada distal en el pie (1 mL de heparina 1:1,000 + 9 mL de solución salina) con aplicación de torniquete manual para evitar el retorno venoso durante 10 min; enseguida se aplican 10 mL de concentrado celular vía venosa retrógrada distal con torniquete manual durante 10 min.



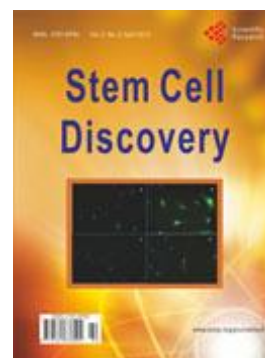
RESULTADOS

Los pacientes fueron evaluados a los 1, 3, 12, 18, 24 y 40 meses del trasplante y las variables fueron: extremidades libres de amputación, distancia sin dolor en metros, índice brazo tobillo (IBT), unidad de la perfusión láser Doppler (UP), y angiografía por sustracción digital.

De septiembre de 2007 a octubre de 2010 (3 años), fueron evaluadas 20 extremidades de 14 pacientes con isquemia severa (Fontaine II-b Rutherford -3).

Long-term effect of autologous progenitor cell therapy to induce neo angiogenesis in patients with critical limb ischemia transplanted via intramuscular vs combined intramuscular and distal retrograde intra venous

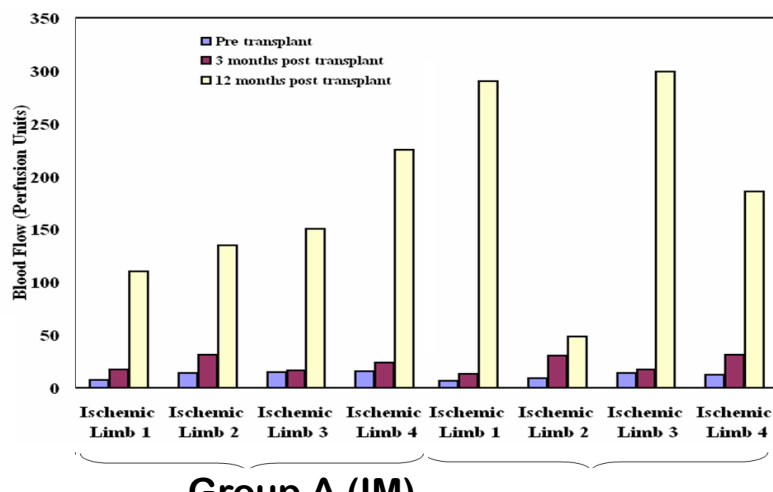
Padilla Luis^{1,2}, Rodríguez-Trejo Juan³, Escotto Ignacio³, López_Hernandez Manuel⁴, González Mauricio⁵, De Diego José⁶, Rodríguez Neftaly³, Tapia Jesús², Landero Takeshi¹, Carranza Pilar Hazel¹, Olguín Juárez Horacio³, Di Silvio Mauricio^{1,7}, Mondragon-Teran Paul⁸



ABSTRACT

Critical limb ischemia is a medical condition that decreases blood flow and limb oxygen supply; this disease in its late stages of progression leads to only two possible options: either surgical bypass revascularization or limb amputation. We investigated a novel method using autologous transplantation of progenitor cells derived from mobilized peripheral blood bone marrow mononuclear cells to evaluate its long-term effect as a cell therapy to induce neo-angiogenesis and restore blood flow in the affected ischemic limbs. A total of 20 ischemic limbs from critical limb ischemia diagnosed patients, non candidates to surgical revascularization were transplanted with autologous progenitor cells by either intramuscular combined with intravenous (group A) or intramuscular (group B) procedure. Patients were monitored during 31 months. Treatment efficacy was evaluated according to the following parameters: ankle brachial index which increased at a range of 0.29 - 1.0 in group A and 0.40 - 0.90 in group B; pain-free walking distance which increased at a range of 50 - 600 m in group A and 50 - 300 m in group B; and blood perfusion (measured by Laser Doppler) which increased at a range of 48 - 299 in group A and 135 - 225 in group B. We achieved 90% treated ischemic limbs free of amputation in both transplanted groups. Results here described provide a safe, efficient and minimally invasive therapy with progenitor cells to induce angiogenesis and preserve limbs from amputation in CLI diagnosed patients.

90%



Amit M. Patel de División of Cardiothoracic Surgery, University of Utah, Salt Lake city, Ut, USA y por Eric Benoit del Department of Surgery, Tufts Medical Center Boston Ma. USA publicaron en Cell Transplant (22:545-562, 2013), un Meta-Análisis de 10 años con 45 ensayos clínicos controlados en donde se practicó terapia celular con células mononucleares derivadas de médula ósea a 1272 pacientes con isquemia severa de miembros inferiores, obteniendo sólo 203 amputaciones que representa el 16%.

Benoit., O´Donnell T.F., Patel A. N.

Safety and Efficacy of Autologous Cell Therapy in Critical Limb Ischemia:

A Systematic Review

[Cell Transplant](#). 2013;22(3):545-62

45 Ensayos Clínicos (Clinical Trials)

PubMed—Cochrane database

(2002-2012/ 10 años)

1518 Pacientes

1272 Terapia Celular

246 Controles

Eficacia (Índice de Amputación)

1272 Pacientes ----- 203 amputaciones 16%

Reportan siete estudios clínicos controlados que fueron comprados contra placebo y seguidos por un FDA y los Institutos Nacionales de Salud de USA, participando grupos de China, Japón, Checoslovaquia, Alemania y USA.

7 RANDOMIZED CONTROLLED TRIALS NIH-FDA

	AUTOR	GRUPOS	RESULTADOS
7	BENOITE. PEARLG. U.S.A. 2011	N=48 G1= 14 PLACEBO G2= 34 TX CEL	E.L.A. G1=28.6% G2= 60.09% P=0.1337
6	LU D. CHINA 2011	N=62 G1= 41 PLACEBO G2= 21 TX CEL	C.U. G1=40% G2= 65% P=0.05
5	POWELL R. COMEROTAA. U.S.A. 2011	N=42 G1= 14 PLACEBO G2= 32 TX CEL	E.L.A. G1=57% G2= 81% P=0.14
4	WALTER D. ZEIHERA. ALEMANIA 2011	N=40 G1= 21 PLACEBO G2= 19 TX CEL	C. U. G1=59% G2= 56%
3	PROCHAZKAK. CHECOSLOVAQUIA KLEMENT G.I. U.S.A. 2010	N=91 G1= 54 PLACEBO G2= 42 TX CEL	E.L.A. G1=56% G2= 78%
2	ARAI M. FUJIWARAH. JAPON 2006	N=25 G1= 12 PLACEBO G2= 13 TX CEL	C.U. G1=16.6% G2= 37.5%
1	HUANG P. P. HAZ Z. CH. CHINA 2005	N=28 G1= 14 PLACEBO G2= 14 TX CEL	E.L.A. G1=37.5% G2= 100% P=0.007

Estos siete ensayos clínicos incluyeron 365 pacientes con isquemia severa de los cuales 195 recibieron terapia celular y 170 sangre diluida como placebo; obteniendo 14.4% de amputaciones para los pacientes con trasplante celular y 27.0% para los placebos con una $P=0.0019$.

El resultado del Meta-Análisis arroja un $OR=0.36$ $p=0.0004$.

Benoit., O'Donnell T.F., Patel A. N.

Safety and Efficacy of Autologous Cell Therapy in Critical Limb Ischemia:
A Systematic Review

[Cell Transplant.](#) 2013;22(3):545-62

7 ENSAYOS CLÍNICOS «ALEATORIZADOS» (NIH-FDA)

(2009-2012)

365 Pacientes
195 Terapia Celular
170 Placebo

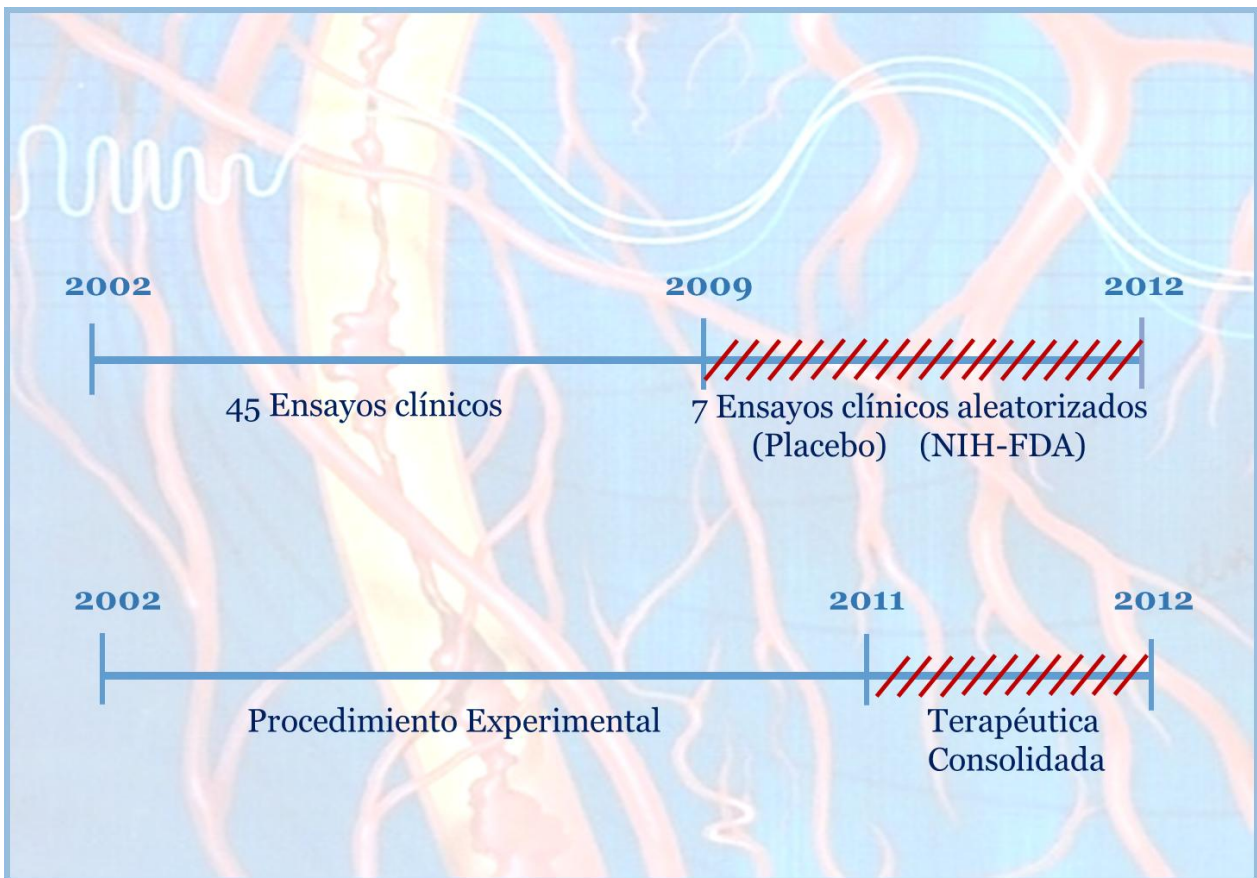
Eficacia (Índice de Amputación)

14.4% Terapia Celular
27.0% Placebo
 $p=0.0019$

La Terapia Celular reduce significativamente las tasas de amputación en pacientes con isquemia crítica de miembros inferiores

Meta-Análisis
 $OR= 0.36$ $p=0.0004$

El artículo concluye que la terapia celular reduce significativamente las tasas de amputación en pacientes con isquemia crítica de miembros inferiores por lo que ya no se considera un procedimiento experimental y sí una terapéutica consolidada.





AVAL: CAS/01/OR/1934/2013

REQUISITOS

- 1.- Hospital con **licencia** de disposición de órganos, tejidos o células progenitoras o troncales con fines de trasplante.
- 2.- Aval de los casos por un «**Comité Hospitalario de Bioética**».
- 3.- Presentación del caso en **sesión clínica** con un **grupo de especialistas** que consideren los beneficios para el paciente.