



ISSN: 1697-090X

[Inicio](#)  
[Home](#)

[Índice del volumen](#)  
[Volume index](#)

[Comité Editorial](#)  
[Editorial Board](#)

[Comité Científico](#)  
[Scientific Committee](#)

[Normas para los autores](#)  
[Instruction to Authors](#)

[Derechos de autor](#)  
[Copyright](#)

[Contacto/Contact:](#)



## LA TERAPIA CELULAR EN EL TRATAMIENTO DE LA ISQUEMIA CRÍTICA DE EXTREMIDADES INFERIORES

Beatriz Cuevas Ruiz, Juan Luis Fonseca Legrand\*, Gerardo Hermida Fernández, Yolanda Gallardo Hoyos\*

Servicio de Hematología y Hemoterapia. \* Servicio de Cirugía Vascolar. Hospital General Yagüe. Burgos. España

[bcuevas @ hgy.es](mailto:bcuevas@hgy.es)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;2:65-71.

---

[Comentario del revisor Valentín del Villar Sordo.](#) Jefe de Servicio de Medicina Interna. Coordinador de Investigación del Área de Salud de Soria. Catedrático de E. U. de Patología Médica. Universidad de Valladolid. España

[Comentario del revisor Dr. Roberto Cuan Ravignal.](#) Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. USP-Ribeirão Preto. Brazil

### ABSTRACT:

Critical limb ischaemia is the final phase of the peripheral arterial disease. The treatment consists of the revascularización, but sometimes, the medical treatment is the only therapeutic option before the amputation. The cellular therapy allows the possibility of dealing with diseases with the use alive cells. This paper is a review about the utilization of adult staminal cells in patients with critical limb ischaemia.

**Keywords:** Critical limb ischaemia. Cellular Therapy

### RESUMEN

La isquemia crítica de la extremidad es la fase final de la enfermedad arterial periférica. El tratamiento consiste en la revascularización, pero en ocasiones, el tratamiento médico es la única opción terapéutica antes de la amputación. La terapia celular permite la posibilidad de tratar enfermedades con el uso de células vivas. En este artículo se efectúa una revisión del uso de células madre adultas en pacientes con isquemia crítica de la extremidad.

**Palabras clave:** Isquemia crítica de la extremidad. Terapia celular

La enfermedad arterial periférica (EAP) está fundamentalmente causada por la aterosclerosis aunque otros procesos como la tromboangiitis obliterante pueden provocarla también. Aunque su patogénesis no es del todo conocida, sí existen una serie de factores de riesgo bien definidos como la hipertensión, la diabetes, la hipercolesterolemia y el tabaquismo. La sintomatología de la EAP se genera por la disminución del aporte sanguíneo a las extremidades inferiores ocasionando distintos grados de afectación que varían desde una claudicación leve hasta el dolor en reposo y la ulceración. El diagnóstico de EAP implica una cifra del índice tobillo/brazo inferior a 0.90.

Aunque existen escasos datos epidemiológicos se cifra la prevalencia de claudicación intermitente en un 3-6% en varones de más de 60 años<sup>1</sup>.

En las formas más severas, la EAP puede presentarse como isquemia crítica de la extremidad. La isquemia crítica de la extremidad se define como aquella situación del paciente con isquemia crónica y dolor, úlceras o gangrena atribuidas de forma objetiva a una enfermedad arterial oclusiva. El término de isquemia crítica de la extremidad (ICE) implica la cronicidad del proceso<sup>2</sup>. Para el diagnóstico de la ICE deben cumplirse los siguientes criterios:

- 1.- dolor de reposo persistente y recurrente que precisa analgesia y una presión sistólica de tobillo < 50 mm Hg y/o presión sistólica del dedo del pie <30 mm Hg y/o
- 2.- ulceración, gangrena, o no cicatrización de las heridas en el pie con presión sistólica de tobillo de 50 mm Hg o presión sistólica del dedo del pie de 30 mm Hg. La clasificación de Fontaine estratifica a los pacientes como clase III (dolor de reposo) o clase IV (ulceración y/o gangrena)<sup>3</sup>.

El diagnóstico clínico de la ICE está basado en la sintomatología provocada por la disminución del aporte sanguíneo, existiendo dos clasificaciones para graduar el grado de afectación; cada categoría conlleva un pronóstico diferente y requiere un tratamiento específico.

Tabla 1: Clasificación de Fontaine y Rutherford

Fontaine		Rutherford		
Estadio	Clínica	Grado	Categoría	Clínica
I	Asintomático	0	0	Asintomático
IIa	Claudicación leve	I	1	Claudicación leve
			2	Claudicación moderada
IIb	Claudicación moderada-grave	I	3	Claudicación grave
			4	Dolor isquémico en reposo
III	Dolor isquémico en reposo	II	5	Pérdida menor de tejido
			6	Pérdida mayor de tejido
IV	Ulceración o gangrena	IV	6	Pérdida mayor de tejido

En estos casos el principal tratamiento es la revascularización: procedimientos de bypass distal o angioplastia. La cirugía de bypass sobre un segmento ocluido ha sido el pilar del tratamiento de los pacientes con ICE. La intervención más común es el bypass arterial femoropoplíteo o el bypass femorodistal. El primer bypass femoro-poplíteo realizado con éxito fue hecho en 1950 por William Holden, usando una sección de una vena del propio paciente<sup>4</sup>.

Un meta-análisis revela que no hay diferencias significativas en la mortalidad entre la cirugía y la angioplastia percutánea transluminal. Sin embargo, la ICE en la mayoría de los casos, se asocia a enfermedad arterial periférica severa y difusa, a menudo con ausencia de circulación distal<sup>5</sup>.

Se estima que un 20-30% de los pacientes con ICE se encontrarían en esta situación y, en estos pacientes junto con aquellos en los que se produce el fallo de una revascularización previa, el tratamiento médico es la única opción terapéutica disponible antes de la amputación. En el documento de consenso de la TASC se estima que el 10-30% de los pacientes con ICE morirán a los 6 meses y un 25-35% sufrirán una amputación mayor. El pronóstico tras la amputación es incluso peor: la mortalidad perioperatoria es del 5 al 10% para la amputación por encima de la rodilla y del 15-

**20% para la amputación por debajo de la rodilla<sup>1</sup>.**

**Incluso cuando estos pacientes sobreviven, alrededor de un 30% morirán en 2 años; un tercio requerirá una segunda amputación y menos de la mitad de ellos alcanzarán la movilidad total.**

**Estos estremecedores datos nos llevan a la búsqueda de alternativas terapéuticas para los pacientes con ICE. Actualmente la terapia celular con el uso de células madre está abriendo un nuevo horizonte.**

### **Terapia celular**

**Las células madre son un grupo heterogéneo de células indiferenciadas, con capacidad de autorregeneración que a su vez pueden dar lugar a diferentes líneas celulares. Estas células descritas en el embrión y que son las formadoras de todas las células, se han observado también en diferentes tejidos del organismo (células madre adultas).**

**Estas células madre adultas tienen capacidad de "transdiferenciación", esto es, son capaces de producir múltiples líneas celulares diferentes a la original y son por tanto, células pluripotenciales. Hay evidencias de que en ciertas condiciones las células de médula ósea pueden diferenciarse a células de linajes no hematopoyéticos y no mesodérmicos. Esta capacidad de algunas células madre se denomina "plasticidad".**

**La terapia celular permite la posibilidad de tratar enfermedades con el uso de células vivas.**

**La capacidad de algunas células del estroma de la médula ósea para diferenciarse en otras líneas celulares no hematopoyéticas está hoy bien documentada<sup>6</sup>.**

**Las células progenitoras endoteliales de médula ósea circulan en sangre periférica y están implicadas en la regeneración del daño vascular y en la neoangiogénesis tras la isquemia tisular. Estas células fueron descritas por Asahara quien demostró su capacidad para contribuir a la formación de nuevos vasos<sup>7</sup>.**

**La isquemia tisular aumenta el reclutamiento de las células progenitoras endoteliales desde la médula ósea hasta la circulación periférica y facilita la incorporación de las mismas a las zonas o lugares de neovascularización<sup>8</sup>.**

**Existe una controversia sobre la identificación y el origen de las células progenitoras endoteliales. Dentro de la médula ósea existe un progenitor común para las células hematopoyéticas y endoteliales y se ha descrito que las células que expresan el antígeno de superficie CD133/VEGFR2 representan una población con capacidad progenitora endotelial. La mayoría de esta población coexpresa el antígeno CD34.**

**No obstante, numerosas evidencias sugieren que hay poblaciones celulares adicionales, derivadas de médula ósea y células no derivadas de médula ósea, las cuales pueden originar células endoteliales. Además, células con características endoteliales no derivadas de médula ósea, han sido aisladas en sangre periférica<sup>9</sup>.**

**Ante este hallazgo en el que diferentes tipos de células, de distintos orígenes, pueden inducir angiogénesis in vivo en modelos animales, se han iniciado varios ensayos clínicos utilizando células mononucleares de médula ósea y de sangre periférica obtenidas tras estimulación con factores estimulantes de colonias.**

**El primer ensayo clínico en humanos con terapia celular en pacientes con ICE fue publicado en 2002 por Tateishi-Yuyama et al<sup>10</sup>, los cuales investigaron la eficacia y seguridad de la implantación de células mononucleares de médula ósea en las extremidades afectas. Valoraron la seguridad y viabilidad del tratamiento, definido como la mejoría del índice tobillo/brazo, de la presión**

transcutánea de oxígeno y del dolor de reposo. El seguimiento fue semanal durante 4 semanas y posteriormente cada 4 meses hasta un total de 24. No se utilizaron factores estimulantes de colonias granulocíticas.

Se obtuvieron 500 ml de médula ósea tras punción de ambas crestas ilíacas bajo anestesia general. Las células mononucleares fueron seleccionadas con un separador y concentradas hasta obtener un volumen final de 30 ml. A las 3 horas de la selección de las células mononucleares de médula ósea, los pacientes recibieron 40 inyecciones de 0,75 ml sobre el músculo gastrocnémico de la extremidad isquémica. El número de células inyectadas osciló entre 0,7 a  $2,8 \times 10^9$ .

Los autores inicialmente realizaron un estudio piloto en el cual incluyeron 25 pacientes (grupo A) con ICE unilateral que recibieron inyecciones de células mononucleares de médula ósea en el músculo gastrocnémico de la pierna isquémica y suero salino en el mismo sitio en la pierna contralateral. Posteriormente reclutaron a 22 pacientes (grupo B) con ICE bilateral, siendo randomizados para la inyección de células mononucleares de médula ósea en una pierna y células mononucleares de sangre periférica sin ninguna estimulación con G-CSF (factor estimulante de colonias granulocíticas) en la pierna contralateral como control. Las primeras conclusiones del estudio fueron la seguridad y viabilidad del tratamiento, basado en la mejoría del índice tobillo/ brazo y del dolor de reposo.

En total 45 pacientes fueron finalmente tratados, 25 en el grupo A y 20 en el grupo B. En el grupo A, tanto el índice tobillo/ brazo como la presión transcutánea de oxígeno mejoró significativamente en las extremidades inyectadas con células mononucleares de médula ósea (desde 0.34 hasta 0.47) a las 4 semanas. En el grupo B, a las 4 semanas tras el tratamiento, el índice tobillo/ brazo estaba significativamente incrementado en las extremidades tratadas con células mononucleares de médula ósea frente a las que recibieron células de sangre periférica (de 0.37 a 0.46;  $P < 0.0001$ ). Una mejoría similar fue observada en la presión transcutánea de oxígeno en este grupo: desde 28.8 hasta 46.3 a las 4 semanas ( $P < 0.0001$ ).

Así mismo, el dolor de reposo y la claudicación, mejoraron en ambos grupos y no se observaron efectos secundarios con el procedimiento.

Este estudio demostró que la implantación de células mononucleares de médula ósea es un tratamiento seguro y efectivo para obtener una angiogénesis terapéutica. Los autores de este trabajo también especifican que en el producto de terapia celular, se administraron progenitores endoteliales (incluyendo la fracción CD 34 +) pero también células (en la fracción CD 34-) que comparten la capacidad de secretar varios factores angiogénicos como VEGF y VEGF (vascular endothelial growth factor) y bFGF (Basic fibroblast growth factor) así como angiopoyetina-1.

Posteriormente, Higashi y col. en 2004 demostraron que el flujo sanguíneo en la pierna tratada respondía a acetilcolina, un vasodilatador dependiente del endotelio; éste había aumentado entre la 4 y 24 semanas tras la implantación de las células mononucleares de médula ósea<sup>11</sup>.

Así mismo en 2004, Huang y col (2004) describieron otra modalidad de terapia celular movilizand o células progenitoras de sangre periférica con G-CSF 600  $\mu\text{g}/\text{día}$  en inyección subcutánea durante 5 días<sup>12</sup>.

Los pacientes también recibieron 10.000 UI/día de heparina para prevenir el potencial riesgo de trombosis arterial aguda inducida por G-CSF. Obtuvieron alrededor de 300 ml de suspensión de células mononucleares de sangre periférica posteriormente concentradas ( $1 \times 10^8$  células mononucleares/ml). El porcentaje de células CD34+ fue de alrededor de  $0.4\% \pm 0.05\%$  en el producto final. Tres horas después, el producto de la terapia celular fue inyectado intramuscularmente en 40 puntos (0.75 ml en cada sitio) incluyendo un total de  $3 \times 10^9$  células mononucleares de sangre periférica movilizadas.

Tras un estudio preliminar en 5 pacientes, los autores describen el primer estudio randomizado de terapia celular en enfermedad arterial periférica en pacientes diabéticos<sup>13</sup>. Incluyeron 56 pacientes que fueron randomizados para recibir células mononucleares movilizadas de médula ósea a sangre periférica y 28 que recibieron tratamiento endovenoso con prostaglandina E1 (dosis de 90-200  $\mu\text{g}/\text{día}$ ); el 1er grupo recibió G-CSF a dosis de 600  $\mu\text{g}/\text{día}$  durante 5 días en inyección subcutánea para la movilización de progenitores. Posteriormente se recolectaron las células mononucleares de

sangre periférica y se concentraron hasta conseguir  $1 \times 10^8$  células mononucleares/ml. Una parte de la recolección fue almacenada en nitrógeno líquido para su uso posterior.

Tres horas después de la recolección se inyectaron en el músculo gastrocnemio en 40 puntos a una distancia de 3 cm, y a una profundidad de 1-1.5 cm, unas  $7.5 \times 10^8$  células mononucleares por punción en cada extremidad afecta. 40 días tras el procedimiento, en la extremidad más afectada se implantaron las células congeladas en nitrógeno líquido

Se realizó un seguimiento en los 3 meses posteriores. Los principales síntomas clínicos, incluyendo dolor de reposo así como el dolor por claudicación mejoraron significativamente en los 14 pacientes que recibieron células mononucleares de sangre periférica. Su media de índice tobillo/ brazo se incrementó desde  $0.50 \pm 0.21$  en situación basal hasta  $0.63 \pm 0.25$  ( $P < 0.001$ ) así como su respuesta al Doppler desde  $0.44 \pm 0.11$  en situación basal hasta  $0.57 \pm 0.14$  unidades de perfusión ( $P < 0.001$ ). Un total de 14 de los 18 con úlceras en la extremidad (77,8%) tras el trasplante cicatrizaron completamente, comparados con sólo el 38,9% en el grupo control ( $P = 0.016$ ). No se produjeron amputaciones de la extremidad inferior en el grupo de los trasplantados, sin embargo se efectuaron 5 en el grupo control ( $P = 0.007$ ). El estudio con angiografía de sustracción digital reveló la formación de nuevos vasos en el grupo trasplantado. No hubo efectos adversos específicos relacionados con el procedimiento.

Este estudio sugiere que el trasplante autólogo de células mononucleares de sangre periférica movilizadas con G-CSF podría ser seguro, efectivo y una aproximación terapéutica al tratamiento de la ICE. Tiene la ventaja de evitar la necesidad de anestesia general para la recogida de células mononucleares de médula ósea y el inconveniente de que puede inducir una trombosis arterial en los pacientes con severa arterioesclerosis.

Es interesante destacar como en un estudio reciente (START) se desestima el uso exclusivo de factor estimulante de granulocitos-macrófagos para el tratamiento de pacientes con claudicación intermitente moderada o severa<sup>14</sup>.

En todos los estudios realizados con terapia celular queda demostrada la viabilidad, seguridad y eficacia de los diferentes procedimientos aunque la valoración definitiva de la terapia celular como tratamiento inexcusable de la ICE requiere estudios randomizados más amplios.

## REFERENCIAS

- 1.- Dormandy JA, Rutherford RB. Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). J Vasc Surg. 2000 Jan;31(1 Pt 2):S1-S296. [PubMed](#)
- 2.- Emmerich J. Current State and Perspectiva on Medical Treatment of Critical Leg Ischemia: Gene and Cell Therapy. Lower Extremity Wounds 2005; 4 (4): 234-241. Disponible en: <http://ijl.sagepub.com/cgi/reprint/4/4/234>. Visto el 15 de mayo de 2006
- 3.- Dorros G, Jaff MR, Dorros AM, Mathiak LM, He T: Tibioperoneal (outflow lesion) angioplasty can be used as primary treatment in 235 patients with critical limb ischemia: five-year follow-up. Circulation 2001; 104:2057-2062. Disponible en: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/104/17/2057>
- 4.- Holden W. Reconstruction of the femoral artery for arteriosclerotic thrombosis. Surgery 1950; 27: 417.
- 5.- Leng GC, Davis M, Baker D. Bypass surgery for chronic lower limb ischaemia. Cochrane Database Syst Rev 2000:CD002000. Disponible en: <http://www.cochrane.org/reviews/en/ab002000.html>

6.- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potencial of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999; 284:143-7. Disponible en:

<http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/284/5411/143>

7.- Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-7. Disponible en:

<http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/275/5302/964>

8.- Kawamoto A, Asahara T, Losordo DW. Transplantation of endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Cardiovasc Radiat Med*. 2002 Jul-Dec;3(3-4):221-5. [PubMed](#).

9.- Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells functional characterization. *Trends Cardiovasc Med*. 2004 Nov;14(8):318-22. Disponible en:

<http://circres.ahajournals.org/cgi/content/full/95/4/343>

10.- Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:427-35. Disponible en:

<http://www.meddean.luc.edu/depts/cme/science%5B2%5D.pdf>

11.- Higashi Y, Kimura M, Hara K, Noma K, Jitsuiki D, Nakagawa K, Oshima T, Chayama K, Sueda T, Goto C, Matsubara H, Murohara T, Yoshizumi M. Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation improves endothelium-dependent vasodilation in patients with limb ischemia. *Circulation*. 2004 Mar 16;109(10):1215-8. Disponible en:

<http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/109/10/1215>

12.- Huang PP, Li SZ, Han MZ, Xiao ZJ, Yang RC, Qiu LG, Han ZC. Autologous transplantation of peripheral blood stem cells as an effective therapeutic approach for severe arteriosclerosis obliterans of lower extremities. *Thromb Haemost*. 2004 Mar;91(3):606-9. [Resumen](#)

13.- Huang P, Li S, Han M, Xiao Z, Yang R, Han ZC. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28:2155-60. Disponible en:

<http://care.diabetesjournals.org/cgi/content/full/28/9/2155>

14.- Van Royen N, Schirmer SH, Atasever B, Behrens CY, Ubbink D, Buschmann EE, Voskuil M, Bot P, Hofer I, Schlingemann RO, Biemond BJ, Tijssen JG, Bode C, Schaper W, Oskam J, Legemate DA, Piek JJ, Buschmann I. START Trial: a pilot study on STimulation of ARTeriogenesis using subcutaneous application of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as a new treatment for peripheral vascular disease. *Circulation*. 2005 Aug 16;112(7):1040-6. [PubMed](#)

**Agradecimiento:** Trabajo realizado con una ayuda de la Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León.

---

**Comentario del revisor** Valentín del Villar Sordo. Jefe de Servicio de Medicina Interna. Coordinador de Investigación del Área de Salud de Soria. Catedrático de E. U. de Patología Médica-Universidad de Valladolid. España

La isquemia crítica de las extremidades inferiores es una patología vascular problemática con alta mortalidad a corto plazo y elevada tasa de amputaciones. Sus factores de riesgo son bien conocidos y definidos. El tratamiento operativo actual principal es la revascularización, pero comienza a tener

un futuro relevante la terapia celular con células madre.

Los autores realizan una revisión narrativa, con bibliografía selecta, útil y de calidad, siendo su propósito fundamental la revisión de alternativas terapéuticas eficaces y seguras que aporten a los pacientes resultados válidos, viables, seguros y aplicables.

Revisan la compleja y diversa trama de las células madre embrionarias y tipifican las células madres adultas y su plasticidad de forma clara y comprensible. Consolidan el hecho de que las células progenitoras endoteliales de médula ósea están implicadas en la neoangiogénesis tras isquemia hística, conociéndose que poblaciones de células no derivadas de la médula ósea pueden generar células endoteliales.

En el terreno de la investigación revisan los resultados de estudios de indudable importancia, como el realizado por Tateishi-Yuyama E, et al (2002), y así mismo los resultados del ensayo de Huang P, et al (2005) cuyo objetivo es evaluar el trasplante autólogo de células mononucleares de sangre periférica movilizadas con factor estimulante de colonias de granulocitos en pacientes diabéticos con isquemia crítica de las extremidades inferiores, siendo el seguimiento de 3 meses. Todos los resultados están adecuadamente reseñados en la revisión y son de extraordinario interés. Aún no siendo lo más relevante, me gustaría significar que, en relación a la curación de las úlceras, el incremento del beneficio relativo en el grupo experimental fue del 100% (IC 95% 24-176%), el aumento del beneficio absoluto es del 38,9% (IC 95% 9,3-68,5%), y el número de úlceras necesario de tratar para obtener una curación adicional es de 3 (IC 95% 1-11).

Esta nueva modalidad terapéutica aporta mayor confianza y seguridad en el tratamiento de esta dolencia tan invalidante y que determina un notable deterioro de la calidad de vida y supervivencia. La revisión realizada es oportuna, y traza el camino de un abordaje terapéutico esperanzador.

---

**Comentario del revisor Dr. Roberto Cuan Ravinal Departamento de Patología. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. USP-Ribeirão Preto. Brazil**

La terapia celular es sin dudas una revolución en las ciencias biológicas y como modalidad terapéutica, como toda novedad científica tiene sus defensores y detractores. La aplicación de células troncales permite la cura de enfermedades a partir de células regenerativas de otras partes del cuerpo como es el llamado "acondicionamiento corneal" y el trasplante de mioblastos para reducir o prevenir la aparición de la insuficiencia cardíaca posisquémica. Otras importantes investigaciones todavía no consolidadas están realizándose con este procedimiento, destinadas a curar e tratar enfermedades como el Alzheimer, el Parkinson, la Diabetes Mellitus y el Síndrome de Down.

En esta oportunidad los autores nos presentan una interesante revisión sobre la terapia celular en el tratamiento de la isquemia crítica de extremidades inferiores, que por la importancia y actualidad del tema debe ser publicada en nuestra revista

---

Recibido, 10 de Junio de 2006.

Publicado, 11 de Julio de 2006.