

## **ANGIOGENESIS TERAPEUTICA CON CELULAS MADRE EN PACIENTES CON ENFERMEDAD ARTERIAL OCLUSIVA CRONICA DEL HOSPITAL MILITAR CENTRAL – IMPACTO CLINICO LUEGO DE SEIS AÑOS**

*Daniel Fernando Carrillo Díaz, MD. Fellow Cirugía Vasculare y Angiología Teniente Coronel FAC. UMNG – HMC*

*Diego Armano Ferreira Fonseca, MD. Fellow Cirugía Vasculare y Angiología UMNG –HMC*

*Carlos Arturo Franco Corredor, MD. Cirujano General y Vasculare, Brigadier General Ejército Nacional ( RA ).UMNG – HMC*

*Luis Fernando García Valencia, MD. Cirujano General y Vasculare UMNG – HMC*

*Luz Mabel Ávila Portillo, MD. Jefe Unidad de Investigación Científica HMC*

---

### **RESUMEN**

**INTRODUCCION:** En el Hospital Militar Central, el servicio de Cirugía Vasculare y Angiología ha forjado experiencia referente a la Angiogénesis Terapéutica (con células madre autólogas) y ha fortalecido el arsenal de alternativas terapéuticas para la isquemia crítica de extremidades sin opción de revascularización en nuestro país, a la par de diversos centros a nivel mundial.

**OBJETIVOS:** Describir la respuesta clínica obtenida a largo plazo (Seis años) con la aplicación de Angiogénesis Terapéutica (con células madre autólogas) en una serie de pacientes con Enfermedad Arterial Periférica de miembros inferiores sin posibilidad de revascularización.

**METODOLOGIA:** *Diseño:* Estudio Observacional Descriptivo tipo Serie de Casos en el Servicio de Cirugía Vasculare y Angiología del Hospital Militar Central. *Casos:* Pacientes con isquemia crónica no revascularizable intervenidos mediante Angiogénesis Terapéutica (con células madre autólogas) en el año 2007.

**RESULTADOS:** 12 Pacientes fueron incluidos en el análisis final a 6 años. 3 fallecieron debido a otras causas y 9 completaron el seguimiento. Hallamos una mortalidad del 25%, y requerimiento de amputación del 8,3%. En estos pacientes evidenciamos mejoría del índice tobillo brazo, la distancia recorrida libre de claudicación (Fontaine) y disminución de la intensidad del dolor relacionado a la isquemia de extremidades. Todo lo anterior, como resultado de la comparación de análisis estadísticos previos al procedimiento versus los mismos, a 6 años. No encontramos diferencias entre las mismas variables a las 12 y 24 semanas y los establecidos a los 6 años.

**CONCLUSIONES:** A falta de monografías de mayor rigor científico, y teniendo en cuenta las grandes limitaciones de nuestro estudio, sugerimos que la mejoría clínica hallada, podría estar relacionada con la aplicación de Angiogénesis Terapéutica Intramuscular. Sugerimos la realización de ensayos clínicos aleatorizados de efectividad y equivalencia, o Meta-análisis de Ensayos Clínicos.

**PALABRAS CLAVE:** *Enfermedad Arterial Periférica, Angiogénesis Terapéutica. (DeCS)*

**KEYWORDS:** *Peripheral Arterial Disease, Therapeutic Angiogenesis. (DeCS)*

---

---

## INTRODUCCION

La EAOC (Enfermedad Arterial Oclusiva Crónica) afecta aproximadamente un 5% de la población americana y su etiología es multicausal, siendo especialmente asociada con síndrome metabólico, el cual esta principalmente atribuido, entre otras variables, a deficientes hábitos de vida (1-3).

La isquemia crítica de miembros inferiores, como estadio final del espectro natural de la enfermedad, se asocia a un alto requerimiento de amputación, deteriora ostensiblemente la calidad de vida personal y familiar, y se asocia a una mortalidad del 50% a 5 años (1-3).

En estados severos, pero aún reversibles, las opciones terapéuticas no quirúrgicas son escasas, e incluso, asumiendo la decisión de operar, muchos pacientes son considerados como no revascularizables, en otras palabras: sin ninguna opción de tratamiento quirúrgico convencional o endovascular. Lo anterior, los ha limitado a recibir manejo médico basado en el control de factores de riesgo y la promoción de estilos de vida saludable.

Las terapias modernas, bajo contextos e indicaciones específicas, se han fortalecido por sus óptimos resultados y escasa invasividad. La Angiogénesis Terapéutica, destinada a la neoformación vascular surge como una potente alternativa a tecnologías convencionales. Dicha técnica incluye el uso de factores de crecimiento angiogénicos con células madre para formación y desarrollo de vasos sanguíneos en contextos específicos, que influyan en el mejoramiento del flujo sanguíneo distal e incrementen la perfusión tisular en la extremidad isquémica (4-7). Al respecto, la investigación clínica a nivel mundial se mantiene en boga, aunque con menor intensidad en países en vías de desarrollo como el nuestro.

Debido a lo anterior, considerando la siguiente hipótesis de trabajo: “La Angiogénesis Terapéutica (con células madre autólogas) en una serie de pacientes del Hospital Militar Central (HMC) con Enfermedad Arterial Oclusiva Crónica de miembros inferiores sin posibilidad de revascularización puede haberse relacionado seis años después a una mejoría clínica del ITB, dolor (Evaluado por EVA), menor frecuencia de amputación y mejor actividad física libre de claudicación (Fontaine)”, construimos este estudio para dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál fue el comportamiento de las medidas de desenlace en pacientes con enfermedad arterial oclusiva crónica sin posibilidad de revascularización en el Hospital Militar Central seis años después de ser sometidos a Angiogénesis Terapéutica en el 2007?

## **MATERIALES Y METODOS**

Estudio observacional descriptivo con un diseño de serie de casos, en pacientes con Enfermedad Arterial Oclusiva Crónica de miembros inferiores sin posibilidad de revascularización sometidos a Angiogénesis Terapéutica por el servicio de Cirugía Vascular y Angiología del Hospital Militar Central en el 2007.

Las valoraciones fueron inicialmente protocolizadas por el departamento de Cirugía Vascular y Angiología para todos aquellos pacientes sometidos a Angiogénesis Terapéutica, por ende existe un protocolo específico para la valoración de las cifras tensionales que dan origen al ITB, para la distancia recorrida antes de claudicación, y para la medición de la intensidad del dolor. Ver Estudio de Franco y Cols (8).

Desarrollamos una base de datos secundaria, con exclusivo respaldo informático, la cual fue asegurada por medio de una contraseña de acceso exclusivo para el grupo investigador.

Describimos y resumimos las variables dependiendo de su naturaleza y su distribución, de esta manera las variables cuantitativas se presentaron con medidas de tendencia central y dispersión, y las variables cualitativas con frecuencias y proporciones. Las comparaciones estadísticas exploratorias se realizaron dependiendo de la naturaleza del dato y el objetivo de su inspección (Por ejemplo, la Prueba de Kruskal Wallis para la comparación de las medianas de los ITB). A pesar de ser éste un estudio observacional, añadimos la búsqueda de diferencias para la proposición de nuevos estudios y la generación de hipótesis de trabajo. La base de datos fue construida en una hoja de cálculo Microsoft® Excel®, y para su correspondiente análisis estadístico y la construcción de probables hipótesis, se utilizó el paquete R®, de distribución gratuita.

## **RESULTADOS**

Previa aprobación del Comité de Ética del Hospital Militar Central, y la Facultad de Medicina de la Universidad Militar Nueva Granada, en un primer estudio (8), fueron introducidos un total de 19 registros hospitalarios de pacientes tratados con Angiogénesis Terapéutica en el año 2007. El total de pacientes completo su seguimiento clínico de 24 semanas. Las características demográficas de dicha población aparece en el artículo de Franco y cols (8).

De los 19 pacientes iniciales, solamente cumplieron los criterios de seguimiento a seis años el 63,16% (12 de 19). Los siete restantes fueron considerados como datos perdidos. Uno de ellos se retiró del estudio, y los seis restantes no pudieron ser contactados para su revisión a los 6 años. En la Tabla 1, resumimos los datos demográficos de interés.

Variable	Estadístico
<b>Edad (años)</b>	75,5 (+/- 36)*
<b>Masculino</b>	8/12 (66,7%)
<b>Comorbilidades</b>	5/12 (41,7%)
- <b>Hipertensión Arterial</b>	- 5/5 (100%)
- <b>Diabetes Mellitus</b>	- 5/5 (100%)
- <b>Amputación Previa</b>	- 2/5 (40%)
- <b>EPOC</b>	- 1/5 (20%)
- <b>Tabaquismo</b>	- 1/5 (20%)
- <b>Evento Cerebro Vascular</b>	

Tabla 1. Características Demográficas de los pacientes incluidos en el análisis a 6 años. (\*Se describe como mediana y rango inter cuartilico debido a su distribución)

En la Tabla 2, presentamos la tasa de mortalidad y de amputación en la serie de casos referenciada. En la Tabla 3, describimos las medianas de los Índices Tobillo Brazo (ITB) según la lateralidad intervenida y un análisis independiente que combina los valores de ambas lateralidades de acuerdo al momento de la evaluación.

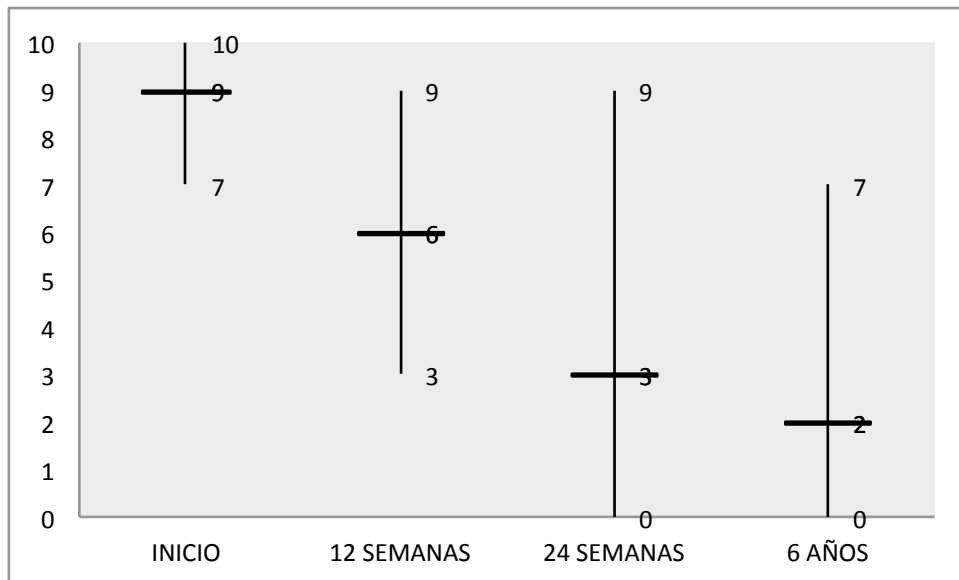
Variable	Estadístico
<b>Mortalidad</b>	3/12 (25%)
<b>Requerimiento de Amputación</b>	1/12 (8,3%)

Tabla 2. Tasa de Mortalidad\* y Amputación a 6 años.  
(Atribuible a cualquier causa, no directamente a la EAOC o al tratamiento con Angiogénesis Terapéutica)

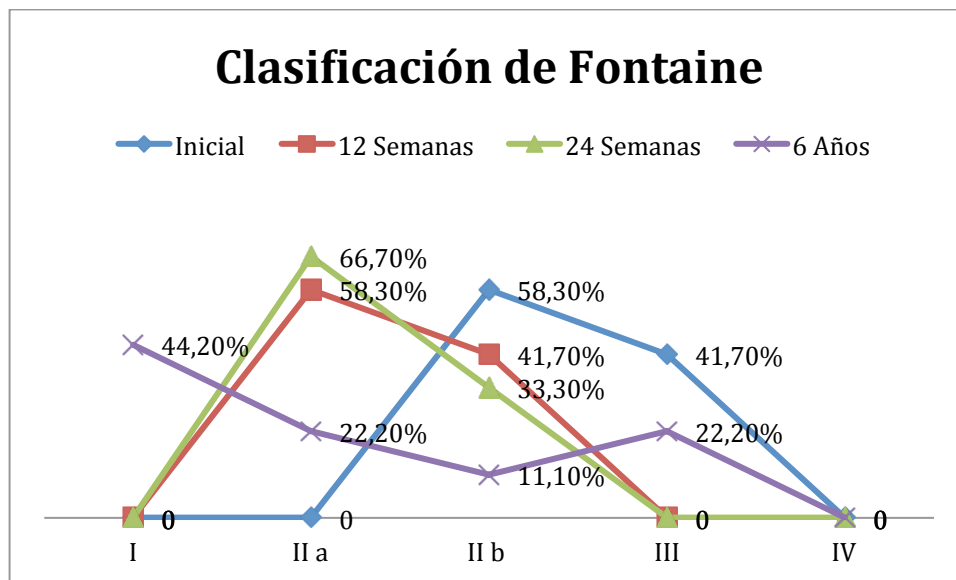
Tiempo	ITB (Derecho) Mediana (Rango)	ITB (Izquierdo) Mediana (Rango)
Inicio	0,53 (0,84)	0,52 (0,75)
12 Semanas	0,61 (0,68)	0,79 (0,54)
24 Semanas	0,68 (0,66)	0,79 (0,45)
6 Años	0,63 (0,23)	0,79 (0,30)

Tabla 3. Índice Tobillo – Brazo (ITB) según el momento de la valoración.

En la gráfica 1, detallamos la intensidad del dolor, medido con unidades EVA y fraccionado según el tiempo. En la gráfica 2, se presenta el estadio clínico basado en la clasificación de Fontaine.



Gráfica 1. Dolor según Escala Visual Análoga (EVA).



Gráfica 2. Clasificación de Fontaine según el momento de la evaluación.

## DISCUSION

El diseño de alternativas terapéuticas menos invasivas a las técnicas endovasculares y/o quirúrgicas en pacientes cada vez más enfermos, no solo podrían generar un alivio a las finanzas gubernamentales destinadas a la cobertura en salud para la población en general, también propondrían un nuevo paradigma en la intervención de la enfermedad vascular periférica con similares indicadores de calidad de vida y resultados a corto, mediano y largo plazo. Similar a lo referido por Rodríguez en su análisis de costo efectividad a favor de células autólogas derivadas de la médula ósea. (9)

El presente estudio, parte de la esencia de una primera fase realizada con antelación en el Hospital Militar Central, en dicho proyecto, bajo una valoración robusta y un seguimiento estandarizado se evaluó la respuesta clínica descrita en términos de Índice Tobillo Brazo (ITB), Dolor, Tolerancia a deambulación libre de claudicación y requerimiento de amputación. En dicha evaluación, realizada de manera estricta por Franco y colaboradores, la aplicación Intramuscular de células madres autologas en 10 puntos alrededor del músculo gastrocnemio fue exitosa, demostrando un importante aumento de los ITB, distancia de caminata libre de claudicación y reducción de la intensidad del dolor, a corto y mediano plazo.

Al realizar el seguimiento a seis años, solamente se pudo recuperar información del 63.2% de los pacientes. lo anterior supone una pérdida de la información del 36.8%, hecho que si bien, no es deseable en ningún tipo de estudio clínico, es esperable dadas las condiciones sanitarias de nuestro país, el aseguramiento de salud a través de diversos operadores territoriales públicos o privados, la inestabilidad en las realidades económicas que sustentan la vida de las familias colombianas y el sub registro de mortalidad existente para procesos investigativos como el presente.

Con una mortalidad del 25% a seis años, nos ubicamos dentro de lo esperable para pacientes con diagnóstico de EAOC Severa, a la par de otros países de la región. Hay que aclarar que dicho estadístico solo mide la mortalidad global de nuestra muestra, y no la atribuible a la EAOC o al procedimiento terapéutico. En cambio, es bastante alentador una muy baja tasa de requerimiento de amputación (8,3%) versus un esperable del 30 al 60% a 6 meses, como esta referenciado en pacientes con Isquemia Crítica no revascularizable sin tratamiento. (10)

Apoiados en los datos del primer estudio, es llamativo que seis años después, el incremento de los índices Tobillo Brazo con respecto a los seguimientos a 12 y 24 semanas no presentaron diferencias clínicas ni estadísticas, (ITB 12 Semanas Vs ITB 6 años:  $p=0,589$ ; ITB 24 Semanas Vs ITB 6 años:  $p=0,386$ ), siendo heterogéneas a las observadas antes de la Angiogénesis ( $p=0,017$ ). Así mismo, advertimos una reducción en la intensidad del dolor a los 6 años con respecto a

las anteriores estimaciones (24 Semanas y 6 Años –  $p=0,031$ ; 12 Semanas y 6 Años –  $p<0,001$ ). Y, equivalentes tendencias de tolerancia a caminata libre de claudicación entre las 12 Semanas y 6 Años ( $p=0,504$ ) y 24 Semanas y 6 Años ( $p=0,361$ ), siendo diferentes a las previas a la intervención ( $p=0,001$ ).

Fundamentados en dichos estadísticos, lo anterior sólo nos puede llevar a dos horizontes teóricos en relación a los hechos: La Angiogénesis Terapéutica puede ser efectiva en la prevención de la evolución de la enfermedad y dada la presencia de un lecho isquémico, la señalización y producción de tejido vascular fue suficiente para generar puentes arteriales capaces de subsanar penumbra isquémica distal, ó, el destino biológico de estos pacientes pertenece al 40% de pacientes que independiente de la terapia iban a detener o incluso mejorar su condición clínica. Si bien, dichos planteamientos son poderosas conclusiones a debatir en el campo de una experimentación de grupos controlados, existen evidencias que nos podrían soportar en mayor medida la primera premisa. La mejoría clínica asociada a unos diferentes unilaterales (nuestros hallazgos fueron demostrados en extremidad derecha e izquierda por separado), la disminución en la intensidad del dolor de un grado severo y continuo a uno leve e intermitente solamente con claudicación a grandes distancias ( $>150$  o  $>200$  metros según la clasificación) están en pro de dicha práctica alternativa de aparentes óptimos resultados. Hallazgos similares a los encontrados en los meta-análisis y experimentos con medición de desenlaces a corto y mediano plazo como los de Teraa y Liu Fu-Peng (11-12).

Basado en este estudio observacional, si bien, nos es imposible constatar o realizar diagnósticos de manera retrospectiva, como sistema de aseguramiento de la validez de los criterios de inclusión utilizados en el estudio anterior, contamos con un sistema de validación del dato para aquellos pacientes que completaron su seguimiento a largo plazo mediante protocolización prospectiva de las mediciones en nuestro servicio. Aun así, de hecho consideramos ideal el haber contado con impresiones diagnósticas de argumento clínico y teórico mas amplio, que permitieran realizar inferencias clínicas colombianas, a gracia de una validez externa contundente. En este caso, sería recomendable incluir pacientes estratificados como Rutherford 5 (Fontaine IV), mas un protocolo basado en prostaglandinas dentro de la intervención con Angiogénesis Terapéutica en el brazo experimental, enfrentado a un un grupo control, en pos de apoderar los hallazgos a corto y mediano plazo, y ser por si solos evidencia irrefutable en un seguimiento a largo plazo, similar al que realizamos en este caso.

## **CONCLUSIONES**

Sugerimos, que en esta serie de casos, al evaluarse a largo plazo (6 años) los impactos derivados de la Angiogénesis Terapéutica Intramuscular en pacientes con EAOC no revascularizable, los beneficios ganados a corto y mediano plazo (Evaluados por Franco & Cols) se mantuvieron presentes, e incluso, en algunos casos, con un mayor beneficio. Dadas las limitaciones de nuestro estudio,

argumentamos la necesidad de ensayos clínicos controlados aleatorizados o meta-análisis de ensayos clínicos encaminados a la comparación de los impactos clínicos a largo plazo, con amplio poder de inferenciación.

## **AGRADECIMIENTOS, DECLARACION DE CONFLICTOS DE INTERESES, Y FINANCIACION**

Agradecemos los aportes realizados por el servicio de Cirugía Vascul y Angiología del Hospital Militar Central, a los asesores temáticos y metodológicos de la Universidad Militar Nueva Granada y a todas aquellas personas relacionados al presente estudio, a los pacientes, y a nuestras familias. Declaramos no presentar conflicto de intereses, y reportamos que este estudio fue financiado con recursos propios del grupo de investigación.

## **REFERENCIAS**

1. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA. Fowkes on behalf of the TASC II Working Group, Örebro, Sweden and Denver, Colorado. 2006.
2. Serrano F, Martin A. Enfermedad Arterial Periferica. Rev Esp Cardiol. 2007;60(9):969–82.
3. Selvin E, Erlinger TP. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. Circulation 2004; 110: 738-743.
4. Burns TC, Verfaillie CM, Low WC. Stem cells for ischemic brain injury: a critical review. J Comp Neurol. 2009;515:125–44.
5. Lindvall O, Kokaia Z. Stem cells for the treatment of neurological disorders. Nature. 2006;441:1094–6.
6. Campagnolo P, Cesselli D, Al Haj Zen A, et al. Human adult vena saphena contains perivascular progenitor cells endowed with clonogenic and proangiogenic potential. Circulation. 2010;121:1735–45.
7. Sasagawa T, Shimizu T, Sekiya S, et al. Design of prevascularized three-dimensional cell-dense tissues using a cell sheet stacking manipulation technology. Biomaterials. 2010;31:1646–54.
8. Franco C, Arroyo F, Pullaz G, Segura D, Ospino B, Avila M, et als. Angiogénesis terapéutica en pacientes con enfermedad arterial oclusiva crónica sin posibilidad de revascularización quirúrgica, Archivos personales – Departamento de Cirugía Vascul y Angiología – Hospital Militar Central. Estudio 2007-2008. Actualmente sometido a publicación.
9. Rodríguez C. Análisis de costo-efectividad de las células autologas derivadas de la medula ósea vs el tratamiento convencional para pacientes con enfermedad arterial oclusiva crónica de miembros inferiores no revascularizable. Vask.



10. Lawall H, Bramlage P, Amann B. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease: A critical appraisal. *Thrombosis and Haemostasis*. 103.4/2010. Downloaded from [www.thrombosis-online.com](http://www.thrombosis-online.com) on 2011-11-29. IP: 24.173.32.26
11. Teraa M, Sprengers R, van der Graft Y, Charmaine E, Moll F, Verhaar C. Autologous Bone Marrow-Derived Cell Therapy in Patients With Critical Limb Ischemia. *Annals of Surgery*. 2013;258(6):922-9.
12. Liu F, Dong J, Sun Sh, Gao W, Zhang Z, Zhou X, et als. Autologous Bone Marrow–Derived Cell Therapy in Patients With Critical Limb Ischemia. A Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. *Chin Med J*. 2012;125(23):4296– 4300.