



ARTÍCULO ORIGINAL

Aplicación de células madres autólogas en pacientes con aterosclerosis obliterante grado IV

Application of autologous stem cells in patients with grade IV atherosclerosis obliterans

Antonio Jesús Día-Díaz¹✉^{ID}, Ornan Concepción-Domínguez¹^{ID}, Franflin Labrador-Labrador¹^{ID} Rosa Martínez-Graverán²^{ID}

¹Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Hospital General Docente "Abel Santamaría Cuadrado". Pinar del Río, Cuba.

²Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Policlínico Universitario "Luis Augusto Turcios Limas". Pinar del Río, Cuba.

Recibido: 14 de julio de 2021

Aceptado: 26 de marzo de 2022

Publicado: 15 de mayo de 2022

Citar como: Día-Díaz AJ, Concepción-Domínguez O Labrador-Labrador F, Martínez-Graverán R. Aplicación de células madres autólogas en pacientes con aterosclerosis obliterante grado IV. Rev Ciencias Médicas [Internet]. 2022 [citado: fecha de acceso]; 26(3): e5214. Disponible en: <http://revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/5214>

RESUMEN

Introducción: la enfermedad arterial periférica de los miembros inferiores afecta a un elevado porcentaje de la población mundial, con las células madres autólogas obtenidas de sangre periférica se logra una mayor síntesis de factores de crecimiento que inducen la angiogénesis.

Objetivo: describir el autotrasplante de células madres autólogas obtenidas de sangre periférica en pacientes con aterosclerosis obliterante grado IV, de Pinar del Río, atendidos en el período de 2009-2019.

Métodos: se realizó un estudio descriptivo, longitudinal, con 296 pacientes que presentaban aterosclerosis obliterante grado IV durante en el período de 2009-2019. Se obtuvo el concentrado de células madres autólogas de sangre periférica. Las células se analizaron por citometría de flujo, donde mostraron una viabilidad celular del 99,3 %. Se les inyectó por vía intramuscular un concentrado de células madres con un número de células inyectadas de ocho, seis, diez. Las variables estudiadas fueron: índice de presión tobillo-brazo en reposo, distancia de claudicación libre de dolor, evaluación de la escala del dolor y criterio de amputación.

Resultado: se observó alivio del dolor a las cuatro semanas y aumento de la distancia de claudicación libre de dolor. La angiografía post tratamiento mostró formación de vasos colaterales. Presentaron criterio de amputación 95 casos (32 %) se logró salvar la extremidad en 201 pacientes (68 %). El proceder realizado no se asoció con ninguna complicación.

Conclusión: la aplicación de células madres autólogas de sangre periférica es segura y eficaz para el tratamiento de la aterosclerosis obliterante grado IV.

Palabras Clave: Células Madre Adultas; Aterosclerosis; Tratamiento Basado en Trasplante de Células y Tejidos; Inmunoterapia Adoptiva.

ABSTRACT

Introduction: peripheral arterial disease of the lower limbs affects a high percentage of the world population; with autologous stem cells obtained from peripheral blood a greater synthesis of growth factors that induce angiogenesis is achieved.

Objective: to describe the auto-transplantation of autologous stem cells obtained from peripheral blood in patients with grade IV atherosclerosis obliterans in Pinar del Rio treated during period 2009-2019.

Methods: a descriptive, longitudinal study was carried out with 296 patients with grade IV atherosclerosis obliterans during the period 2009-2019. Autologous peripheral blood stem cell concentrate was obtained. The cells were analyzed by flow cytometry, where they showed a cell viability of 99,3 %. Stem cell concentrate was injected intramuscularly with a number of cells injected of eight, six and ten. The variables studied were ankle-brachial pressure index at rest, pain-free claudication distance, pain scale assessment and amputation criteria.

Result: pain relief was observed at four weeks and increase in pain-free claudication distance. Post-treatment angiography showed collateral vessel formation. Amputation criteria were met in 95 cases (32 %) and the limb was saved in 201 patients (68 %). The procedure carried out was not associated with complications.

Conclusion: the application of autologous peripheral blood stem cells is safe and effective for the treatment of grade IV atherosclerosis obliterans.

Keywords: Adult Stem Cells; Atherosclerosis; Cell- And Tissue-Based Therapy; Immunotherapy, Adoptive.

INTRODUCCIÓN

La arteriosclerosis obliterante es la causa más frecuente de enfermedad oclusiva arterial en los adultos y su forma más común es la aterosclerosis.⁽¹⁾ Esta enfermedad afecta alrededor del 15 % de los adultos sobre los 55 años de edad y su forma más grave es la denominada isquemia crítica.⁽¹⁾

En general, se ha planteado que el objetivo terapéutico de la isquemia crónica de los miembros inferiores consiste en aliviar la sintomatología, particularmente el dolor, evitar la progresión de la enfermedad y disminuir el índice de amputaciones. Se ha señalado que la meta principal en la mayor parte de los pacientes con isquemia crítica es la preservación de la extremidad afectada.⁽²⁾

La medicina regenerativa, cuyo desarrollo está unido estrechamente con los nuevos conocimientos relacionados con las propiedades de las células madre embrionarias y adultas y el potencial regenerativo y terapéutico proporcionado por la terapia con células madre,⁽³⁾ se ha propuesto para la inducción de angiogénesis,⁽⁴⁾ pues evidencia el potencial terapéutico de las células madre adultas en el tratamiento de enfermedades de las arterias periféricas. Los estudios preclínicos y el estudio clínico pionero realizado en los últimos años, han proporcionado evidencias que la implantación de células mononucleares procedentes de la médula ósea (CMN-

MO) en los miembros isquémicos puede mejorar la vascularización del tejido,^(5,6,7) con resultados similares a los obtenidos con células madres de sangre periférica.

En el año 2004, Cuba presentó los primeros trabajos realizados en el Instituto de Hematología en el hospital "Enrique Cabrera" de Ciudad de La Habana, con resultados alentadores desde el punto de vista clínico y además con muy pocos efectos adversos, en los últimos años se mantuvo en un nivel mejor que algunos países desarrollados.

Así mismo, en la provincia de Pinar del Río, en el año 2005, se realizaron los primeros 10 casos con un ascenso progresivo en la experiencia acumulada con el uso de las células madres. Su, cada vez mayor, facilidad de obtención han hecho que las investigaciones y aplicaciones con este tipo de células avancen con rapidez con grandes expectativas en cuanto a la aplicación clínica para el tratamiento de diversas enfermedades vasculares.

El objetivo de este trabajo es describir el autotrasplante de células madres autólogas obtenidas de sangre periférica en pacientes con aterosclerosis obliterante grado IV de Pinar del Río atendidos en el período de 2009-2019.

MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo y longitudinal, con la finalidad de describir el autotrasplante de células madre en pacientes con aterosclerosis obliterante grado IV, atendidos en el servicio de Angiología del Hospital General Docente Abel Santamaría Cuadrado de la provincia de Pinar del Río, de 2009-2019.

El universo correspondió a 721 pacientes que acudieron al servicio, con el diagnóstico de aterosclerosis obliterante grado IV y la muestra se conformó por 296 que cumplían los criterios de inclusión, todos mayores de 45 años.

Como criterio de inclusión se tuvo en cuenta los pacientes con isquemia crítica, por aterosclerosis obliterante grado IV de los miembros inferiores, con oclusión del sector arterial femoropoplíteo y distal y que no tuvieran posibilidad de cirugía revascularizadora.

Así mismo se excluyeron del estudio aquellos pacientes con estenosis del sector aorto iliaco, estado de hipercoagulabilidad, diabetes mellitus descompensada, anemia no controlada, leucemia o mielodisplasia, enfermedad neoplásica activa, enfermedad arterial coronaria severa, arritmia incontrolada, angina inestable, trombocitopenia mayor de 100 000 /ul, y las embarazadas.

Para la obtención, movilización, auto-donación y recuento de las células mononucleares e implantación en la extremidad isquémica de los pacientes, se utilizó el método manual simplificado.^(7,8,9)

El seguimiento realizado a los pacientes tuvo las siguientes características:

- Evaluación a las cuatro semanas: clínica (síntomatología y distancia de claudicación) Estudio Hemodinámico.
- 26 semanas: clínica (síntomatología y distancia de claudicación) Estudio Hemodinámico.
- 53 semanas: clínica (síntomatología y distancia de claudicación) Estudio Hemodinámico y Angiografía.

Durante este período se tuvo como principal aspecto a evaluar la seguridad medida a través de parámetros como la sobrevivencia y la aparición de complicaciones asociadas al tratamiento, como sangramiento, infección, trombosis aguda y/o calcificación. Se consideró el tratamiento como no seguro ante la aparición de al menos una de estas complicaciones.

Igualmente se siguió el aumento de los índices de presiones al considerar una modificación clínicamente importante ante un aumento de 0.15 unidades o más del índice de presiones tobillo-brazo (ITB), en alguno de los seguimientos con relación al valor basal.

Los pacientes se monitorearon con ITB en reposo. Distancia de marcha sin claudicación y la evaluación de la escala del dolor de reposo, por métodos descritos.⁽⁷⁾ Según las normas internacionales un ITB > 0.9 se consideró normal y un aumento mayor de 0.1 se juzgó como una mejoría significativa, más notable cuando el aumento era mayor de 0.15

Los pacientes se evaluaron evolutivamente durante las cuatro semanas, 26 semanas y 53 semanas. La mayoría no dio su consentimiento para las arteriografías de seguimiento. Como criterios de respuesta primaria se tomaron la disminución de la necesidad de una amputación mayor y la disminución del dolor de reposo sin uso de analgésicos o su desaparición dentro de las 26 semanas después del implante celular.

La fuente de información fue la historia clínica de cada paciente con diagnóstico de aterosclerosis obliterante grado IV. Los modelos de recolección de la información se incluyeron en una planilla de recolección de datos en la cual se archivó toda la información general relacionada con el estudio.

Para identificar la asociación de las variables se utilizó el test chi Cuadrado de independencia. En todos los casos se trabajó para un nivel de confianza del 95%, prefijándose una zona crítica o de rechazo de 0.05, en relación con el valor de probabilidades p. Es decir, a $p < 0.05$, existió significación estadística.

Se cumplió con los principios de la ética médica y los aspectos establecidos en la Declaración de Helsinki.

RESULTADOS

Predominó el sexo masculino (62,5 %) sobre el femenino (37, 5 %).

Predominaron los grupos de edades 65 a 74 años (37 %), 55-65 años (28 %) y el grupo entre 45 y 55 años (20 %); seguido por el grupo de 75 a 85 años (9 %) y el de más de 85 años con el 6 % de la muestra.

Se evidenció que el 23,3 % de los pacientes eran portadores de úlceras no cicatrizantes, mientras que el 17,5 % presentaban úlcera y gangrena. (Tabla 1)

Tabla 1. Distribución de los pacientes con Aterosclerosis Obliterante Grado IV según lesión isquémica de la extremidad. Hospital General Docente Abel Santamaría Cuadrado de la provincia de Pinar del Río, de 2009-2019.

LESION ISQUÉMICA	No.	%
Úlceras no cicatrizantes	78	26,3
Gangrena	166	56
Gangrena y úlcera	52	17,5

Fuente: Historias Clínicas

Se evidenció mejoría del dolor en reposo después de 26 semanas post implante (99 %); así como el aumento de la distancia de la marcha sin claudicación que aumento a 250 metros. (Tabla 2)

Tabla 2. Evolución clínica según dolor de reposo y claudicación de los pacientes con Aterosclerosis Obliterante Grado IV

Grupo	Variable	Pre-implante	Post implante (semanas)		P 1	P 2
			4	26		
CMN-SP	Dolor de reposo (Escala 4 - 0)	4(296) (100 %)	2(154) (52,3 %)	0(199) (99 %)	0,000*	0,014
	Distancia de marcha sin claudicación (metros)	10	30	250	0,109	0,043

Fuente: Historias Clínicas

Se observó una evolución satisfactoria según los índices de presiones tobillo-brazo (ITB) de pre implante y post implante en las extremidades inyectadas y no inyectadas de los pacientes con Aterosclerosis Obliterante Grado IV. (Tabla 3)

Tabla 3. Evolución clínica según los índices de presiones tobillo-brazo, de los pacientes con Aterosclerosis Obliterante Grado IV.

	Pre implante	Post implante (semanas)			P1	P2	P3
		4	26	53			
Extremidad inyectada	0,24	0,39	0,50	0,62	0,041*	0,018*	0,002*
Extremidad no inyectada	0,64	0,68	0,58	0,7	0,680	1,000	0,737

Fuente: Historias Clínicas.

Al realizar el análisis estadístico se encontró que el valor medio ITB incrementó significativamente ($P \leq 0,05$) en la extremidad inyectada a las 26 semanas. De las 26 semanas a las 53 semanas se registró una tendencia al incremento no significativa, pero si con respecto a los valores medio pre-implante.

En el 68 % de los pacientes con criterio de amputación no llegaron a realizarse dicho proceder por su satisfactoria evolución después del tratamiento. (Tabla 4)

Tabla 4. Indicación de amputación de los pacientes con Aterosclerosis Obliterante Grado IV

INDICACIÓN DE AMPUTACIÓN MAYOR	No.	%
Se amputaron	95	32
No se amputaron	201	68

Fuente: Historias Clínicas

Se evidenció mejoría de las úlceras isquémicas con granulación hística en 69 (88,4 %) de 78 pacientes que recibieron CMN-SP, en dos de ellos la lesión demoró para cicatrizar hasta las 26 semanas y en siete (8,9 %) fue necesario realizar una amputación mayor.

DISCUSIÓN

El paulatino envejecimiento de la población y el hecho de que cada vez sea mayor el grupo poblacional de la tercera edad, hace que sean muchas las investigaciones centradas en mejorar el pronóstico de la dolencia por aterosclerosis obliterante y en la búsqueda de alternativas a la mutilación de las extremidades.^(10,11)

Al comparar el número de pacientes por sexos predominó el masculino lo cual se corresponde con la literatura reportada en otros estudios. Se encontró que la prevalencia de la enfermedad vascular periférica en miembros inferiores (MI), en la población de entre 25 y 65 años es del 0,7 % en mujeres y del 1,3 % en hombres.⁽¹¹⁾

Jiménez,⁽¹²⁾ por su parte refiere que la isquemia crónica o déficit en el aporte sanguíneo en las extremidades inferiores afecta entre el 3 % y el 5 % de los varones con más de 60 años, y su complicación es una de las razones de amputación, ambos coinciden con el presente estudio en el que los hombres fueron los más afectados.

La hipertensión arterial, el tabaquismo y la dislipemia, predominaron en los pacientes estudiados, constituyendo la llamada tríada de la muerte por el peligro que entraña su asociación en un mismo paciente.

En correspondencia con otros estudios se utilizó el método manual (la separación por sedimentación mediante el empleo de hidroxietilalmidón al 6 %) y los buenos resultados obtenidos por la implantación de CMN-SP movilizadas con el FECG demostraron la utilidad de este método y coincidieron con lo informado por otros autores.^(8,9,10) Este es un proceder que tiene ventajas para el paciente pues no es necesario administrar anestésicos ni usar el salón de operaciones como sucede cuando se extrae médula ósea.

Roque y Fang,^(8,10) en sus estudios durante la obtención y procesamiento de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica para la terapia celular en enfermedades angiológicas, obtuvo resultados similares a los actuales, sin presentarse reacciones adversas importantes en los pacientes.

Aunque se ha encontrado efectividad de la terapéutica angiogénica con terapia génica con el factor de crecimiento del endotelio vascular en pacientes con isquemia crítica de miembros inferiores, la terapéutica con implantación de CMN-SP puede proporcionar una estrategia angiogénica más integral en estos pacientes.

Al respecto, Samir J y cols.,⁽¹³⁾ coincide con que el dolor de reposo había mejorado significativamente a las cuatro semanas y a las 24 semanas había desaparecido. La distancia de marcha sin claudicación también mejoró progresivamente; resultados similares a los obtenidos en esta investigación.

Hernández Ramírez y col.,⁽¹⁴⁾ en su publicación "Experiencia Cubana con el uso Terapéutico de Células Madres Adultas" en diferentes hospitales del país, reafirmó que en los pacientes tratados con terapia celular e isquemia crítica de los miembros inferiores, el dolor de reposo y la distancia de marcha sin claudicación mejoraron a las 24 semanas, sin la presencia de complicaciones graves y reacciones adversas.

Es necesario señalar que aunque en el estudio no existió correlación entre mejoría clínica y un incremento significativo de los valores medio ITB en el primer mes después del implante de las células madre, todo parece indicar que con el alivio de dolor, la recuperación de sueño y del estado general, junto a una mejoría franca de las lesiones, el paciente puede desarrollar una vida más activa y mejorar la marcha libre de dolor, aunque no se refleje con un aumento significativo en los ITB hasta las 26 o las 53 semanas; resultados obtenidos por otros autores.⁽¹⁵⁾

Como elemento interesante, se debe apuntar que en la pierna no tratada se puede apreciar una mejoría a las 26 semanas, lo que parece haber ocurrido debido a que en este período los pacientes han desarrollado una distancia de marcha libre de dolor suficiente para mejorar con el ejercicio diario la formación de angiogénesis a nivel de los músculos por la acción de las células madres, lo que aumenta el flujo sanguíneo en la extremidad inyectada y la no inyectada. Esto se evidencia por un mejoramiento de los parámetros estudiados en ambas extremidades y demostrado por el desarrollo de la circulación colateral en las angiografías evolutivas, este comportamiento ya ha sido previamente descrito.⁽¹⁴⁾

Hernández Reyes y cols.,⁽¹⁶⁾ encontró al realizar un estudio comparativo con pacientes diabéticos que presentaba isquemia crítica de los miembros inferiores, una mejoría estadísticamente significativa en el grupo en el cual administraron células madres y en el grupo que inyectaron albúmina humana solo mejoró el 50 %.

Aunque se ha encontrado efectividad de la terapéutica angiogénica con terapia génica con el factor de crecimiento del endotelio vascular en pacientes con isquemia crítica de miembros, la terapéutica con implantación de CMN-MO o de CMN-SP puede proporcionar una estrategia angiogénica más integral en estos pacientes.

La isquemia crónica o déficit en el aporte sanguíneo en las extremidades inferiores afecta a entre el 3 y el 5 % de los varones con más de 60 años, y su complicación es una de las razones de amputación, si bien hasta ahora, la simpatectomía lumbar y la estimulación medular han sido los tratamientos clásicos para evitar la amputación ante esta complicación en diabéticos, se ha comprobado que la terapia celular también puede ser una alternativa a tener en cuenta segura y eficaz.

Se concluye que se permitió demostrar la efectividad de la implantación de células madre autólogas obtenidas de sangre periférica, además, se demuestra la evolución favorable de los pacientes, la mejoría clínica del dolor de reposo, la distancia de marcha sin claudicación y el índice de presión tobillo-brazo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Todos los autores participaron en la conceptualización, análisis formal, administración del proyecto, redacción - borrador original, redacción - revisión, edición y aprobación del manuscrito final.

Financiación

Los autores no recibieron financiación para el desarrollo de la presente investigación.

Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en: www.revcompinar.sld.cu/index.php/publicaciones/rt/suppFiles/5214

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Velescu A. Arteriopatía ocliterante de extremidades inferiores en una población mediterránea: epidemiología y asociación con enfermedad cardiovascular [Internet]. España: Universitat Autònoma de Barcelona; [Internet]. 2017. [citado 23/04/2021]: [aprox. 124 p.]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/10803/405306>
2. Feito-Castex TR, Arce González MA, Medina-Llamosa PD, et al. Caracterización de los pacientes con enfermedad arterial periférica, tratados con células mononucleares autólogas. Rev. cuba. angiología. cir. vasc [Internet]. 2020[citado 23/04/2021];21(2): e91. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=96924>
3. Hernández Ramírez P, Artaza Sáenz H, Aparicio Suárez JL, Cruz Tamayo F, Díaz Díaz AJ, Fernández Delgado N, et al. Impacto de la medicina regenerativa en angiología. Experiencia cubana Rev Cubana Angiol Cir Vasc [Internet]. 2017 Jun [citado 23/04/2021]; 18(1): 3-18. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1682-00372017000100002&lng=es
4. Sedding DG, Boyle EC, Demandt JAF, et al. Vasa vasorum angiogenesis: Key player in the initiation and progression of atherosclerosis and potential target for the treatment of cardiovascular disease. Front Immunol. [Internet]. 2018 [citado 23/04/2021]; 9:706. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.00706/full>

5. Moñux G, Martín A. Isquemia crónica de miembros inferiores. Enfermedad arterial periférica. *Medicine*. [Internet]. 2017 [citado 23/04/2021]; 12(41):2440-7. Disponible en: <https://www.medicineonline.es/es-isquemia-cronica-miembros-inferiores-enfermedad-articulo-S030454121730224X>
6. Horie T, Yamazaki S, Hanada S, et al. Outcome from a randomized controlled clinical trial-improvement of peripheral arterial disease by granulocyte Colony-stimulating factor-mobilized autologous peripheral-blood-mononuclear cell transplantation (IMPACT). *Circ J*. [Internet]. 2018 [citado 23/04/2021]; 82(8): 2165-74. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/circj/advpub/0/advpub_CJ-17-1220/article/-char/ja/
7. Yang XF, Wu YX, Wang HM, XU YF, Lü X, Zhang YB, et al. Autologous peripheral blood stem cells transplantation in treatment of 62 cases of lower extremity ischemic disorder. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. [Internet]. 2005 [citado 23/04/2021]; 44(2):95-8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15840218/>
8. Roque Pérez L, Alfonso Alfonso Y, Plaín Pazos C. Aplicaciones de las células madre en la angiología cubana. *Univ Méd Pinareña* [Internet]. 2018 [citado 23/04/2021]; 14(3): 276-288. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=82222>
9. Cortina Rosales L, Hernández Ramírez P, López De Roux MdelR, Artaza Sanz HM, Dorticós Balea E, Macías Abraham C, et al. Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica para trasplante de células madre: Método simplificado. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2008 Dic [citado 23/04/2021]; 24(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000300004&lng=es
10. Fang, G., Jiang, X., Fang, Y. et al. Autologous peripheral blood-derived stem cells transplantation for treatment of no-option angitis-induced critical limb ischemia: 10-year management experience. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2020 [citado 23/04/2021]; 11(458). Disponible en <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01981-4>
11. Hernández-Ramírez P, et-al. Extensión en Cuba del autotransplante de células madre adultas autólogas derivadas de la médula ósea. 2004-2014 una década de fructífero desarrollo. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* [Internet]. 2016 [citado 23/04/2021]; 6(3):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/621>
12. Jiménez, CE, Randial L, Silva I. Uso de células pluripotenciales en el tratamiento de la isquemia crítica. *Rev Colomb Cir* [Internet]. 2017 [citado 23/04/2021]; 32(2): 146-151. Disponible en: <https://www.revistacirugia.org/index.php/cirugia/article/view/18>
13. Samir J, Mariano A, Zaefferer P, Pfund G, Fabiani A, Nau G, Thierer J, Padilla L, Belardi J, Cura F. Tratamiento de la isquemia crítica de miembros inferiores. *Revista Argentina de Cardiología* [Internet]. 2010 [citado 23/04/2021]; 78(2):129-133. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=305326918016>
14. Hernández Ramírez P, Artaza H, Díaz AJ, Cortina LD, Lam RM, Pol N, Dorticós E, Macías C, Del Valle L, León L. *Revista española de investigaciones quirúrgicas* [Internet]. [Internet]. 2007 [citado 23/04/2021]; 10(4): 204-211. Disponible en: <http://www.reiq.es/numeros-revistas-hanckJAsdi86/REIQ%2010.4.2007.pdf>

15. Isaza C, Henao J, Aránzazu J. La medicina regenerativa: fundamentos y aplicaciones. Revista Médica de Risaralda [Internet].2018. [citado 23/04/2021]; 24(2): 119-124. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmri/v24n2/0122-0667-rmri-24-02-119.pdf>

16. Hernández Reyes LH, Fundora Sarraff T, Hernández Ramírez P, Ballet Leal F, Urgellés Linares A, Fernández Columbié Y. Estudio gammagráfico del trasplante de células mononucleares autólogas en pacientes con insuficiencia arterial crónica. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2018 Sep [citado 23/04/2021]; 34(3): 1-9. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892018000300008&lng=es