

ANEXO I: SINOPSIS DEL INFORME FINAL DEL ENSAYO CLÍNICO CON CÓDIGO DE PROTOCOLO CMMo/ICPD/2008, EudraCT: 2008-004064-39

Este Informe se realiza siguiendo la normativa ICH **ICH Harmonised Tripartite Guideline** Topic E 3: Structure and Content of Clinical Study Reports, NOTE FOR GUIDANCE ON STRUCTURE AND CONTENT OF CLINICAL STUDY REPORTS (CPMP/ICH/137/95)

TÍTULO DEL ENSAYO CLÍNICO

Ensayo Clínico fase II sobre la Angiogénesis Terapéutica con Células Mononucleadas de Médula Ósea Autóloga en pacientes Diabéticos con Isquemia Crónica Crítica de miembros inferiores no revascularizables

PROMOTOR

Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas a través de la Fundación Progreso y Salud.

CÓDIGO DEL PROTOCOLO

CMMo/ICPD/2008

Número de EudraCT

2008-004064-39

FÁRMACO EXPERIMENTAL

Células Mononucleadas de Médula Ósea Autóloga.

INVESTIGADORES

Investigador Coordinador

Inmaculada Concepción Herrera Arroyo
FEA de Hematología,
Directora Técnica del Área de Terapia Celular
Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba.
Avda. Menéndez Pidal, s/n
14004 - Córdoba
Tfno 957 0129 65 FAX 957 010 429
e-mail: inmaculada.herrera.ssp@juntadeandalucia.es

Investigadores Principales

Francisco Tadeo Gómez Ruiz
Jefe de Servicio de Angiología y Cirugía Vascular

ANEXO I
Sinopsis Informe Final CMMo-ICPD-2008
Promotor: Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas

Hospital Universitario Virgen del Rocío
Avda Manuel Siurot s/n
41013-Sevilla
Tfno 955 012 342
e-mail: sacramar@hotmail.com

Diego de Alcalá Martínez Gómez
Jefe de Sección de Cirugía general
Hospital General Universitario Morales Meseguer
Avda Marqués de los Vélez, s/n
30008 - Murcia
Tfno 968 360 900
e-mail: diegoa@carm.es

José Patricio Linares Palomino
FEA de Cirugía Vascolar
Hospital Universitario San Cecilio
Avda. Dr. Oloriz, 16
Tfno 958 023 366
e-mail: joseplinares@telefonica.net

Vicente García Róspide
Jefe de Servicio de Angiología y Cirugía Vascolar
Hospital Universitario Virgen de las Nieves
Avda. de las Fuerzas Armadas, 2
18014 - Granada
Tfno 958 020 155
e-mail: vgrospide@gmail.com

Equipo Investigador

- Pablo González Navarro. Servicio de Hematología. Hospital Universitario San Cecilio
- Salvador Oyonarte Gómez. Centro Regional de Trasfusión Sanguínea. Granada
- Antonio Fernández Montoya. Centro Regional de Trasfusión Sanguínea. Granada
- Ricardo Asensio García. Servicio de Angiología y Cirugía Vascolar. Hospital Universitario San Cecilio
- Eduardo Ros Díe. Servicio de Angiología y Cirugía Vascolar. Hospital Universitario San Cecilio
- Rafael Ros Vidal. Servicio de Angiología y Cirugía Vascolar. Hospital Universitario San Cecilio
- Javier Peiró. Servicio de Radiología. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla
- Antonio Capel Alemán. Servicio de Radiodiagnóstico. C.S. Virgen de la Arrixaca. Murcia.
- Germán Morales Cuenca. Servicio de Cirugía General. Hospital Universitario J.M. Morales Meseguer. Murcia.
- Maria Angeles Moreno Carrillo. Servicio de Rehabilitación. Hospital Universitario J.M. Morales Meseguer. Murcia.
- Jose Manuel Felices. Servicio de Radiodiagnóstico. C. S. Virgen de la Arrixaca. Murcia

- Miguel Canis López. Jefe de Servicio de Radiología. Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.
- Antonio Chacón Quevedo. Servicio de Cirugía Cardiovascular. Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.
- José García-Revilla García. Medico Especialista en Radiodiagnóstico. Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.
- Luis Zurera Tendero. Medico Especialista en Radiodiagnóstico. Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.
- Ramón Ribes Bautista. Medico Especialista en Radiodiagnóstico. Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.
- Pablo Pérez Vallecillos. Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.
- Cristina López Espada. Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.
- Antonio García Entrena. Servicio de Radiodiagnóstico (Angiorradiología). Hospital Universitario Virgen de las Nieves.
- Pedro Pardo Moreno. Servicio de Radiodiagnóstico (Angiorradiología). Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

CENTROS EN LOS QUE SE HA LLEVADO A CABO

- Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.
- Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla
- Hospital Universitario San Cecilio de Granada
- Hospital General Universitario Morales Meseguer de Murcia
- Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada

COMITÉS ÉTICOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA QUE HAN EVALUADO EL PROYECTO

- CEIC de Referencia: Comité Autonómico de Ensayos Clínicos de Andalucía.

AUTORIZACIONES Y VERSIONES DE DOCUMENTOS OFICIALES

CEIC de referencia	Aprobación 6 de octubre de 2008
	Versión vigente: Versión 3, de 29 de octubre de 2009
Autorización AEMPS	Autorización 10 de febrero de 2009
	Versión vigente: Versión 3, de 29 de octubre de 2009
Hoja de Información al Paciente	Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado de Participación. Versión 30 de junio de 2008
	Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado para procedimiento de Infusión Celular mediante Angiografía. Versión 30 de junio de 2008
	Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado Hospital Morales Meseguer. Versión 5 de noviembre de 2008
	Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado Punción de Médula Ósea. Versión 15 de septiembre de 2008
Dossier del Producto en Investigación	Versión 1 de julio de 2008
Protocolo. Modificaciones	Versión Final de 30 de junio de 2008
	Versión 1 de 10 de marzo de 2009. Enmienda no relevante

	Versión 2 de 19 de mayo de 2009. Enmienda no relevante
	Versión 3 de 29 de octubre de 2009. Enmienda no relevante

MONITORIZACIÓN DEL ENSAYO CLÍNICO

El seguimiento del ensayo hasta la finalización del mismo, es decir, hasta la última visita del último paciente incluido, y la realización del análisis estadístico, así como la elaboración de los informes de seguridad y de factibilidad e indicios de eficacia, ha sido realizado por la CRO P-Value contratada al efecto.

El cierre formal del ensayo clínico, incluyendo las visitas de cierre de los centros y la elaboración del presente resumen, como parte del informe final, así como su presentación a la autoridades, han sido realizados directamente por personal perteneciente a la Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas, promotor del ensayo clínico objeto de este documento.

Se realizaron todas las visitas preceptivas de inicio del ensayo clínico, con apertura de todos los centros, las visitas de seguimiento a lo largo del mismo, así como las de cierre de cada uno de los centros participantes.

AUDITORIAS E INSPECCIONES

A lo largo del desarrollo del ensayo clínico se realizaron diferentes inspecciones y auditorías para garantizar la calidad del mismo según las normas de buena práctica clínica:

- Septiembre 2011. La Consejería de Salud llevó a cabo una inspección en 2 de los centros participantes del ensayo clínico.
- Octubre 2012. La Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas, en calidad de promotor del ensayo clínico fue auditada por la empresa externa dTC (Development Team Consulting), donde se revisaron los archivos correspondientes y los PNTs del promotor.
- Enero 2013. El centro participante, Hospital U. Reina Sofía como centro más reclutador de pacientes, fue auditado por una empresa externa al promotor, TFS, contratada a tal efecto por el mismo.

En todos los casos, los resultados de las mismas fueron satisfactorios, no encontrándose hallazgos graves que pusieran en duda la calidad del ensayo clínico o los resultados del mismo.

DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CRONOGRAMA DEL ENSAYO CLÍNICO

El primer paciente se incluyó una vez obtenidas las autorizaciones de los Comités Éticos correspondientes y de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

- Aprobación CEIC referencia: 6 de octubre de 2008
- Autorización AEMPS: 10 de febrero de 2009
- Primer paciente incluido: 1 de julio de 2009

- Último paciente incluido: 18 de noviembre de 2010
- Fin del seguimiento del último paciente incluido: 29 de septiembre de 2011

Se estimó que el período de inclusión durase entre doce y dieciocho meses con doce meses de seguimiento para cada paciente incluido. El periodo de inclusión real se extendió desde el 1 de julio de 2009 al 18 de noviembre de 2010, un total de 16 meses y medio, cumpliéndose así con el planteamiento previsto.

DISEÑO DEL ENSAYO CLÍNICO

Ensayo Clínico Fase II, prospectivo, multicéntrico, abierto, aleatorizado y controlado en grupos paralelos con 3 niveles de dosis.

Enfermedad en estudio

Isquemia Crónica Crítica de miembros inferiores en pacientes diabéticos.

Objetivos del ensayo clínico

Objetivo principal

Evaluar la seguridad y factibilidad del autotrasplante de células mononucleadas de médula ósea autóloga, administradas por vía intraarterial en pacientes diabéticos con isquemia crítica crónica de los miembros inferiores sin posibilidad de revascularización.

Objetivos secundarios

1. Comparar el efecto de tres dosis crecientes de mo-CMNs en la recuperación de parámetros clínicos, angiológicos y angiográficos en pacientes diabéticos con isquemia crítica de miembros inferiores con un grupo control que solo lleva el tratamiento convencional.
2. Analizar las complicaciones derivadas de la terapia regenerativa en sí, de la vía de administración y/o de los procedimientos del estudio.

Medicamento en Investigación. Dosis y Vía de administración

Células Mononucleadas de Médula Ósea Autóloga.

La terapia celular, considerada como medicamento, y propósito de este Ensayo Clínico, consiste en una suspensión de células mononucleadas de la médula ósea autóloga que se obtienen mediante centrifugación en gradiente de densidad, sin modificación ni adición de ningún producto que afecte su funcionalidad biológica

Se estudiaron 3 dosis diferentes de células mononucleadas:

- 1×10^8 (Cien millones)
- 5×10^8 (Quinientos millones)
- 1×10^9 (Mil millones)

El medicamento de terapia celular se administró por vía intraarterial.

Terapia de referencia

Se trató de un ensayo abierto en el que los pacientes aleatorizados a grupo control fueron tratados según la práctica habitual siguiendo las Guías Terapéuticas de la TASCII (Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease TASC II. Eur J Vasc Endovasc Surg Vol 33, Supplement 1, 2007)

Duración del tratamiento

El tratamiento con el fármaco experimental, células mononucleadas de médula ósea autóloga, se administró en una única infusión (1 día).

Población en estudio (prevista y analizada)

El número de pacientes incluidos en el estudio fue de 60 pacientes diabéticos con isquemia crónica crítica de al menos un miembro inferior y sin posibilidades de revascularización, tal como estaba previsto por protocolo.

En el grupo experimental se incluyeron un total de 45 pacientes divididos en 3 niveles de dosis, es decir 15 pacientes en cada nivel. Otros 15 pacientes se incluyeron en el grupo control.

Los pacientes que cumplieron los criterios de selección y manifestaron su conformidad con la participación en el ensayo mediante la firma del consentimiento informado, se asignaron de forma aleatoria o bien al grupo control o bien a cualquiera de los tres grupos experimentales.

Grupo 1	grupo control	15 pacientes
Grupo 2	1x10e8 de mo-CMNs	15 pacientes
Grupo 3	5x10e8 de mo-CMNs	15 pacientes
Grupo 4	1x10e9 de mo-CMNs	15 pacientes

El listado de aleatorización fue generado con el programa nQuery Advisor Version 7.0

Principales Criterios de Inclusión

1. Diabético tipo I o II, en tratamiento.
2. Enfermedad vascular infrapoplítea aterosclerótica de grado severo (clase Rutherford-Becker II-III), de al menos un miembro inferior. Se define la isquemia crítica del pie como dolor persistente/recurrente que requiere analgesia y/o úlceras no cicatrizantes presentes > 4 semanas, sin evidencia de mejoría con terapias convencionales y/o *walking test* (prueba de esfuerzo) entre 1-6 minutos en dos ergometrías separadas al menos por 2 semanas y/o índice tobillo-brazo en reposo < 0,8.
3. Imposibilidad de revascularización quirúrgica o endovascular según las recomendaciones de la TASC
4. Expectativa de vida > 2 años.
5. No previsión de amputación mayor en el miembro a tratar en los próximos 12 meses tras la inclusión.
6. Parámetros bioquímicos normales.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN

Variables principales:

De seguridad

- Seguridad durante el procedimiento: se evaluaron las posibles complicaciones derivadas del procedimiento en las primeras 24 horas tras la administración de células.
- Seguridad a 1 mes, 3 meses, 6 meses, 9 meses y 12 meses, con el fin de conocer la aparición de eventos que de forma definitiva o probable pudieran estar relacionados con la terapia celular.

De eficacia

- Mejoría de la vascularización del miembro tratado determinada mediante parámetros clínicos, angiológicos y angiográficos.
- Evaluación de la angiografía a los 6 y 12 meses de la administración del medicamento de terapia celular:
 - Criterio cualitativo -Escala de vascularización, con grados 0, 1, 2, 3.
 - Medición cuantitativa mediante el programa informático MetaMorph Image System v.7.5.1
- Valoración de la angioresonancia y/o angiotac a los 12 meses, evaluando la vasculogénesis y angiogénesis en comparación con el estado basal, mediante criterios cualitativos.

Variables secundarias

Se analizaron los cambios a 1 mes, 3 meses, 6 meses, 9 meses y 12 meses de las siguientes variables clínicas: índice tobillo brazo, presión transcutánea de oxígeno, grado de Rutherford-Becker, tamaño de la mayor úlcera (según clasificación Texas) y perímetro gemelar.

Modificaciones respecto a los criterios iniciales de evaluación previstos.

- Durante el desarrollo del ensayo clínico se produjeron desviaciones del protocolo que obligaron a modificar los criterios de evaluación y el análisis previsto inicialmente. Por consideraciones éticas de algunos investigadores, no se realizaron los estudios angiográficos a los controles durante el seguimiento. Este hecho obligó a modificar el análisis de los datos, así como a recoger las desviaciones del protocolo ocurridas.

- A lo largo del desarrollo del ensayo clínico y en el curso del análisis de los datos, se plantearon algunas interpretaciones distintas a las previstas inicialmente. Por ejemplo, el análisis de las amputaciones, tanto mayores como menores estaba incluido en el análisis de seguridad, sin embargo, lo incluimos aquí en el análisis de eficacia, ya que en el tratamiento de estos pacientes con isquemia crítica de miembros inferiores y diabetes, se dan dos circunstancias especiales: por una parte, la amputación menor, por ejemplo de un dedo de un pie, puede ser una medida preventiva de una amputación mayor, y por otra, la mejor forma de medir la eficacia de una terapéutica, sería la “evitación de la amputación mayor, o salvamento de miembro”. Por ello, incluimos en esta sinopsis el análisis de las amputaciones en el análisis de los indicios de eficacia.
- Por otro lado, los resultados preliminares de algunas variables secundarias de eficacia, nos han llevado a construir una variable combinada de eficacia, denominada “indicador de vasculogénesis” en la que incluyen 4 parámetros de valoración:
 - Escala cualitativa de vascularización, con grados 0, 1, 2, 3.
 - Presión transcutánea de oxígeno.
 - Grado de Rutherford-Becker.
 - Tamaño de la mayor úlcera cuando exista úlcera.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Población de análisis

La población en estudio correspondió a pacientes diabéticos de ambos sexos con Isquemia Crónica Crítica de Miembros Inferiores. Se incluyeron un total de 60 pacientes que se asignaron de forma aleatoria o bien al grupo control (tratamiento convencional) o bien a cualquiera de los tres niveles de dosis del grupo experimental de tratamiento. Se incluyeron 15 pacientes en cada uno de los grupos.

Para el análisis estadístico los pacientes fueron distribuidos de dos formas distintas:

- a) 4 grupos, distribuidos tal como se definen en el protocolo:
 - a. G 1: 15 pacientes grupo control
 - b. G 2: 15 pacientes tratados con dosis baja
 - c. G 3: 15 pacientes tratados con dosis intermedia
 - d. G 4: 15 pacientes tratados con dosis alta.
- b) 2 grupos, distribuidos de la siguiente forma:
 - a. Grupo control = G1, 15 pacientes grupo control
 - b. Grupo experimental = 45 pacientes tratados

Descripción de las poblaciones de análisis

Definimos dos poblaciones para este estudio:

- La Población por Seguridad: aquella compuesta por todos los pacientes aleatorizados.

- La Población por Intención de Tratar (ITT): compuesta por todos aquellos pacientes aleatorizados, cumplieran o no los criterios de selección, que fueron incluidos en el estudio.

El análisis descriptivo se realizó por población y por grupos de tratamientos. Se ha comprobado, en las variables biodemográficas, que las muestras fueron homogéneas en los grupos definidos.

Análisis de seguridad

Se realizó para la población por seguridad.

Se calculó el número y porcentaje de pacientes que abandonaron el estudio debido a acontecimientos adversos, los pacientes que experimentaron al menos un acontecimiento adverso, los acontecimientos adversos más frecuentes y los pacientes que han experimentado al menos un acontecimiento adverso grave (AAG). Se calculó el intervalo de confianza del 95%.

Se ha estudiado si existen diferencias estadísticamente significativas en el número de AAG entre los casos y los controles y entre las distintas dosis de fármacos entre sí.

Se ha estudiado si existen diferencias estadísticamente significativas en el número de amputaciones mayores y menores ocurridas durante el estudio entre los casos y los controles y entre las distintas dosis de fármacos entre sí, así como los casos ocurridos entre miembros diana y no diana.

Se ha estudiado si existen diferencias estadísticamente significativas en el número de AAG que comienzan en dolor y/o necrosis y/o gangrena y acaban en amputación, entre los casos y los controles y entre las distintas dosis de fármacos entre sí, así como los casos ocurridos entre miembros diana y no diana.

Análisis de factibilidad

El análisis de factibilidad se ha realizado para la población por intención de tratar, estableciendo que el ensayo clínico cumplía criterios de **factibilidad** cuando:

- Más del 80% de la población total cumple más del 80% de las visitas de seguimiento definidas en el protocolo, atendiendo a los criterios de retirada definidos en el protocolo, y
- Siempre que estos porcentajes no sean menores del 75% en los grupos experimentales.

Análisis de los indicios de eficacia

El análisis de los indicios de eficacia se realizó con la población por ITT.

Todos los p-valores e intervalos de confianza se han calculado y evaluado usando un nivel confianza bilateral del 95%.

Las comparaciones se han realizado, siempre que fue posible, de tres formas:

- Comparando todos los grupos entre sí.

- Comparando el grupo control con los de tratamientos agrupados entre si y tomados como uno.
- Comparando los grupos agrupados de dos en dos.

Las variables principales de indicios de eficacia se analizaron de la siguiente manera:

- La evaluación de la angiografía (escala cualitativa de vascularización de 0 a 3) y los parámetros cuantitativos obtenidos del análisis de la imagen con “MetaMorph Image System v.7.5.1” se compararon, dos a dos, entre el día 0 (día de administración de la terapia celular-visita 2), el mes 6 (visita 6) y 12 (visita 8), mediante el test t-test para muestras pareadas si la variable cumple los requisitos de normalidad y mediante el test de Wilcoxon para muestras pareadas en otro caso.
 - Se consideró como mejora en la vascularización de los miembros tratados, el aumento en 1 ó más grados en la escala de vascularización.
- Las variables secundarias de factibilidad y eficacia del tratamiento, ABI (índice tobillo-brazo), tamaño de la úlcera, tensión transcutánea de O₂, grado Rutherford-Becker y perímetro gemelar, se analizarán comparando, dos a dos, sus valores basales con los obtenidos al mes 1, 3, 6, 9 y 12.

Por otro lado, los resultados preliminares de algunas variables secundarias de eficacia, nos han llevado a construir una **variable combinada de eficacia**, denominada “**indicador de vasculogénesis**” en la que incluyen 4 parámetros de valoración:

- Escala cualitativa de vascularización, con grados 0, 1, 2, 3
- Presión transcutánea de oxígeno,
- Grado de Rutherford-Becker,
- Tamaño de la mayor úlcera cuando exista úlcera

Cada uno de los parámetros fue codificado como una variable binaria 0/1, en la que “0” se definirá como la ausencia de mejoría, y 1, cualquier grado de mejoría observado.

La Variable “Indicador de vasculogénesis” define la ausencia o presencia de indicios de creación de nuevos vasos. Fue cuantificada del 0 al 4, siendo el “0” la ausencia de indicios de neovascularización, y 4 el mayor indicio de neovascularización. El valor de la variable resultó del sumatorio de la valoración de cada parámetro.

El valor de la variable “**Indicador de vasculogénesis**” resultará del sumatorio de la valoración de cada parámetro.

- 0 = los 4 parámetros de medida son puntuados como “0”
- 1 = uno de los parámetros de medida son puntuados como “1”
- 2 = dos de los parámetros de medida son puntuados como “1”
- 3 = tres de los parámetros de medida son puntuados como “1”
- 4 = cuatro de los parámetros de medida son puntuados como “1”

Codificaciones

Se han realizado las siguientes codificaciones de términos:

- **Acontecimientos Adversos Graves y No Graves:** Diccionario MedDRA versión 14.1 con niveles SOC y PT (IATA).
- **Medicación Concomitante:** Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification System (IATA).

Paquete estadístico

Para el análisis de datos se ha usado el paquete estadístico SPSS versión 18.0.

RESUMEN DEL ANALISIS DE SEGURIDAD. RESULTADOS

Variables de seguridad:

La seguridad se evaluó a dos niveles:

- Seguridad durante el procedimiento: se evaluaron las posibles complicaciones derivadas del procedimiento en las primeras 24 horas tras la administración de células.
- Seguridad a 1 mes, 3 meses, 6 meses, 9 meses y 12 meses, con el fin de conocer la aparición de eventos que de forma definitiva o probable pudieran estar relacionados con la terapia celular.

RESULTADOS

Reacciones Adversas Graves e Inesperadas (RAGIs)

Ningún paciente presentó Reacción Adversa Grave e Inesperada (RAGI) alguna durante el periodo de tratamiento y de seguimiento.

Acontecimientos Adversos Graves (AAGs)

Ningún paciente presentó un acontecimiento adverso grave previo al inicio del tratamiento.

Ningún paciente presentó un acontecimiento adverso grave durante el periodo de tratamiento (días 0, 1 y 2).

Se registraron 41 acontecimientos adversos graves (AAGs) durante el periodo de seguimiento, que afectaron a 23 pacientes; 9 pacientes en el grupo 1 (60%), 4 pacientes en el grupo 2 (26,67%), 4 pacientes en el grupo 3 (26,67%) y 6 pacientes en el grupo 4 (40%).

Los AAG más frecuentes fueron:

MEDRA SOC	Frecuencia	Porcentaje
Trastornos vasculares 10047065	19	46.3
Trastornos cardíacos 10007541	5	12.2
Procedimientos médicos y quirúrgicos 10042613	4	9.8
Infecciones e Infestaciones 10021881	3	7.3
Lesiones traumáticas, intoxicaciones y complicaciones de procedimientos terapéuticos 10022117	3	7.3
Trastornos del sistema nervios 10029205	3	7.3

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas (valor para el estadístico chi-cuadrado de 3,97 y una $p=0,0463$), que debemos tomar con las reservas oportunas entre el porcentaje de pacientes del grupo control que sufrieron AAGs (60%)

y el porcentaje de pacientes en el grupo de tratamiento (tomado en conjunto), con AAGs (31%)

Acontecimientos Adversos No graves

Los acontecimientos adversos no graves durante el periodo de tratamiento (días 0, 1 y 2 del protocolo) afectaron a 4 pacientes; 1 paciente en el grupo 1 (6,66%), 2 pacientes en el grupo 2 (13,33%), 0 pacientes en el grupo 3 (0%) y 1 paciente en el grupo 4 (6,66%). Estos 4 pacientes sufrieron 7 episodios de acontecimientos adversos no graves durante este periodo.

Los acontecimientos adversos no graves durante el periodo de seguimiento afectaron a 43 pacientes; 8 pacientes en el grupo 1 (53,33%), 11 pacientes en el grupo 2 (73,33%), 10 pacientes en el grupo 3 (66,67%) y 14 pacientes en el grupo 4 (93,33%). Estos 43 pacientes sufrieron 184 episodios de acontecimientos adversos no graves durante este periodo.

Amputaciones y muertes durante el ensayo clínico

Según el protocolo, la elección del miembro diana se realizó en base a la situación clínica basal del paciente, actuando sobre el miembro con peor situación.

En función de esta elección, podríamos considerar que existían 60 miembros dianas y otros 60 miembros no dianas..

El número de amputaciones en miembros dianas (24 sobre 60=40%) fue muy superior al número de amputaciones en miembros no dianas (7 sobre 60= 11,67%). Además esta diferencia (40% - 11,67%= 28,33%) es estadísticamente significativa siendo el IC95% de esta diferencia (12,80%, 42,28%). Este hallazgo es indicador de que la elección del miembro diana, según el criterio establecido en el protocolo, ha sido correcta, y que esta diferencia general no se debe a la inclusión del paciente en un determinado grupo de tratamiento.

Se encontraron diferencias en la incidencia de amputaciones mayores entre el grupo control y el de tratamiento tomado globalmente. Las amputaciones mayores se registraron en 3 de los 15 pacientes del grupo control (20% de los pacientes del grupo control) y en 4 de los 45 pacientes del grupo tratamiento (8,89% de los pacientes del grupo tratamiento).

Las amputaciones menores se registraron en 3 pacientes del grupo control (20% de los pacientes del grupo control) y en 11 pacientes del grupo tratamiento (24,44% de los pacientes del grupo tratamiento).

Las amputaciones que se iniciaron en necrosis se registraron en 3 pacientes del grupo control (20% de los pacientes del grupo control) y en 8 pacientes del grupo tratamiento (17,78% de los pacientes del grupo tratamiento). La diferencia de estas proporciones no es estadísticamente significativa como se puede comprobar con el p valor del test exacto de Fisher (p=0,559).

Se produjeron dos muertes en el periodo de seguimiento y ninguna fue considerada una Reacción Adversa Grave e Inesperada. Sus causas fueron:

- Accidente cerebrovascular
- Accidente cardiovascular isquémico. Sobreinfección respiratoria

CONCLUSIONES DEL ANALISIS DE SEGURIDAD

Los resultados obtenidos en el análisis de seguridad permiten concluir ***que la infusión intraarterial de células mononucleadas de médula ósea autóloga en pacientes diabéticos con isquemia crítica crónica de miembros inferiores, presenta un perfil de seguridad muy amplio, ya que no se ha producido ninguna Reacción Adversa Grave e Inesperada durante el curso del ensayo clínico, ni en relación con el procedimiento de Infusión, ni con el Medicamento en Investigación.***

Este perfil de seguridad fue independiente de la dosis administrada en cada caso.

Las diferencias encontradas en la incidencia de Acontecimientos Adversos Graves, a favor del grupo de pacientes que recibieron tratamiento experimental, no tienen tampoco una significación estadística.

Las diferencias observadas en la tasa de amputaciones mayores, igualmente a favor del tratamiento experimental, tampoco llegaron a alcanzar significación estadística, posiblemente por la pequeña "n" del estudio.

RESUMEN DEL ANALISIS DE FACTIBILIDAD E INDICIOS DE EFICACIA

Factibilidad

Tal como se define la factibilidad en el Plan de Análisis estadístico (PAE), ***el ensayo clínico cumplió criterios de factibilidad*** pues:

Más del 80% de la población total (concretamente el 95%) cumple más del 80% de las visitas de seguimiento definidas en el protocolo, atendiendo a los criterios de retiradas definidos en el protocolo, y este porcentaje no es menor del 75% en los grupos experimentales (concretamente es del 97,8%).

Indicios de Eficacia

Variables principales de eficacia

- Evaluación de la angiografía a los 6 meses de la administración del medicamento de terapia celular:
- Criterio cualitativo -Escala de vascularización, con grados 0, 1, 2, 3.

- Medición cuantitativa mediante el programa informático MetaMorph Image System v.7.5.1
- Valoración de la angioresonancia y/o angiotac a los 12 meses, evaluando la vasculogénesis y angiogénesis en comparación con el estado basal, mediante criterios cualitativos y cuantitativos (software MetaMorph Image System v.7.5.1)

Escala cualitativa de vascularización.

Nota: las medidas en la escala de vascularización se refieren a los pacientes tratados experimentalmente.

Se ha valorado la perfusión del miembro distal según la siguiente escala de vascularización:

- Grado 0: Arterias principales infrapoplíteas (tibial anterior, tibial posterior y/o peronea) presentan una nula o mínima ramificación.
- Grado 1: Presencia de una débil ramificación que no sobrepasa 1/3 de la distancia entre la arteria principal y la superficie externa del miembro.
- Grado 2: Ramificación arterial que abarca el tercio medio de la distancia entre la arteria infrapoplíteas principal y la superficie del miembro.
- Grado 3: Rica ramificación arterial desde la arteria principal infrapoplíteas que se extiende hasta la superficie del miembro.

Parámetros cuantitativos obtenidos del análisis de la imagen con Metamorph.

Nota: las medidas en los parámetros cuantitativos del análisis de la imagen con Metamorph se refieren a los pacientes tratados experimentalmente.

Variables secundarias

Cambios al 1er, 3er, 6º, 9º y 12º mes de los siguientes parámetros clínicos y angiológicos:

- Índice tobillo brazo (ABI)
- Presión transcutánea de oxígeno
- Grado de Rutherford-Becker
- Tamaño de la mayor úlcera (según clasificación Texas)
- Perímetro gemelar

“Indicador de vasculogénesis” en el que se incluyeron 4 parámetros de valoración:

- Escala cualitativa de vascularización, con grados 0, 1, 2, 3
- Presión transcutánea de oxígeno
- Grado de Rutherford-Becker
- Tamaño de la mayor úlcera cuando exista úlcera

Amputaciones menores y mayores.

RESULTADOS

Mejora en la vascularización.

Nota: las medidas en la escala de vascularización se refieren a los pacientes tratados experimentalmente.

En todos los grupos de tratamiento las medidas cualitativas de vascularización en las visitas de selección y mes 6 están relacionadas pues los p-valores de los estadísticos ordinales son menores que 0.05. Y como los valores de los estadísticos son positivos y cercanos a 1 podemos decir, para todos los grupos de tratamiento, que a mayor grado de vascularización en la visita de selección, mayor grado de vascularización en el mes 6.

En los grupos de tratamiento 2 y 3 las medidas cualitativas de vascularización en las visitas de selección y mes 12 están relacionadas pues los p-valores de los estadísticos ordinales son menores que 0.05. Y como los valores de los estadísticos son positivos y cercanos a 1 podemos decir que en los grupos de tratamiento 2 y 3 no se observan cambios en el grado de vascularización entre la visita de selección y la del mes 12. En el grupo 4, en cambio, tenemos un p-valor de estas medidas >0.05 (concretamente 0.195) lo que nos lleva a aceptar que en el grupo de tratamiento 4 no existe relación lineal entre las medida cualitativas de vascularización en las visitas de selección y del mes 12, observándose los siguientes cambios: 4 de los 7 pacientes con grado 2 de la escala de vascularización en la visita de selección pasan a grado 3 en la visita del mes 12 (Tabla 478).

En la visita del mes 6 se observa, en los grupos de tratamiento, una mejora en la vascularización, de modo que el 28,9% de los pacientes globalmente, aumenta al menos 1 grado en la escala de vascularización, no encontrándose diferencias significativas entre los distintos grupos de tratamiento.

En la visita del mes 12 se observa, en los grupos de tratamiento, se observa una mejora en la vascularización de un 37,5% de manera global, siendo del 55,6% en el grupo 2, del 16,7% en el grupo 3, y del 45,5% en el grupo 4. Dichos porcentajes provocan diferencias amplias, no estadísticamente significativas, posiblemente debido al pequeño tamaño de la muestra, en la mejora en la vascularización entre los distintos grupos de tratamiento.

Parámetros cuantitativos obtenidos del análisis de la imagen con Metamorph

No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros cuantitativos obtenidos del análisis de la imagen con Metamorph en el momento inicial y en la visita de seguimiento del mes 6 en función del grupo de tratamiento al que fuera asignado el paciente.

No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros cuantitativos obtenidos del análisis de la imagen con Metamorph en el momento inicial

y en la visita de seguimiento del mes 12 en función del grupo de tratamiento al que fuera asignado el paciente.

Amputaciones menores y mayores

Se encontraron diferencias en la incidencia de amputaciones mayores entre el grupo control y el de tratamiento tomado globalmente. Las amputaciones mayores se registraron en 3 de los 15 pacientes del grupo control (20% de los pacientes del grupo control) y en 4 de los 45 pacientes del grupo tratamiento (8,89% de los pacientes del grupo tratamiento). La diferencia observada no es estadísticamente significativa como se puede comprobar con el p valor del test exacto de Fisher ($p=0,234$).

Las amputaciones menores se registraron en 3 pacientes del grupo control (20% de los pacientes del grupo control) y en 11 pacientes del grupo tratamiento (24,44% de los pacientes del grupo tratamiento). La diferencia de estas proporciones no es estadísticamente significativa como se puede comprobar con el p valor del test exacto de Fisher ($p=0,513$).

Índice tobillo-brazo

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medidas del índice tobillo brazo en el momento inicial y en las visitas de seguimiento de los meses 1, 3, 6, 9 y 12, entre los cuatro grupos de tratamiento ni entre control vs tratamiento.

Presión transcutánea de oxígeno

Como se puede observar en la tabla que aparece a continuación la presión transcutánea de oxígeno va aumentando a lo largo de los meses de seguimiento en el grupo de tratamiento, y no sigue un patrón claro en el grupo control.

Diferencia en presión transcutánea de oxígeno	Grupo control				Grupo tratamiento			
	N	Media	IC 95%	Mediana	N	Media	IC 95%	Mediana
Mes 1-Visita de selección	12	-8,42	(-22,95 , 6,12)	-2,50	44	11,55	(6,42 , 16,67)	8,50
Mes 3-Visita de selección	11	-3,00	(-18,48 , 12,48)	-1,00	42	9,45	(3,82 , 15,08)	6,00
Mes 6-Visita de selección	11	1,63	(-9,38 , 12,65)	9,00	42	12,50	(6,68 , 18,33)	12,50
Mes 9-Visita de selección	10	9,20	(-8,52 , 26,92)	10,50	41	14,78	(8,66 , 20,91)	11,00
Mes 12-Visita de selección	11	-5,00	(-27,18 , 17,18)	-3,00	39	15,87	(9,22 , 22,52)	13,00

Entre el grupo control y el grupo de tratamiento se observan diferencias estadísticamente significativas en las medidas de la presión transcutánea de oxígeno en el momento inicial y en las visitas de seguimiento de los meses 1 (p -valor T-Student = 0.001) y 12 (p -valor T-Student = 0.001).

Grado de Rutherford-Becker

Respecto al grado de Rutherford-Becker (tabla 475), a los 12 meses se observó una mejoría en 2 de los 11 pacientes del grupo control (18,2% de los sujetos), manteniéndose el resto con igual grado. En los grupos de tratamiento, esta mejoría fue

del 78,6% (11 de 14), 100% (13 de 13) y 76,9% (10 de 13) para los grupos 2, 3 y 4 respectivamente, no observándose empeoramiento en ninguno de los sujetos restantes. Estas diferencias entre el grupo control y los grupos de tratamiento son estadísticamente muy significativas (todas las comparaciones $p < 0,01$), sin observarse diferencias entre la dosis celular.

Tamaño de la úlcera

Tomados en conjunto, en el grupo de tratamiento se observa una reducción en el tamaño de la úlcera (diámetro máximo de la úlcera) a lo largo del seguimiento del ensayo con respecto a la medida inicial.

Esta reducción fue significativamente mayor que la observada en el grupo control en los meses de seguimiento 3, 9 y 12, como podemos observar en la siguiente tabla.

Por otra parte, los IC95% tan amplios nos invitan a pensar que la muestra deba ampliarse para validar la conclusión anteriormente expuesta.

Cuando se analizan individualmente, comparando cada grupo de tratamiento con el grupo control, aunque existe una tendencia a la reducción en el tamaño de la úlcera durante el seguimiento en todos los grupos, ésta sólo es estadísticamente significativa en el grupo de tratamiento 4 respecto al control.

En la siguiente tabla se puede observar que en los pacientes del grupo 4, a medida que las visitas se suceden el tamaño de la úlcera (diámetro máximo de la úlcera) disminuye con respecto a la medida inicial, y además esa disminución es estadísticamente significativa con respecto a lo que les sucede a los pacientes del grupo control. Por otra parte, los IC95% tan amplios nos invitan a pensar que la muestra deba ampliarse para validar la conclusión anteriormente expuesta.

	Mes 1 vs Selección	Mes 3 vs Selección	Mes 6 vs Selección	Mes 9 vs Selección	Mes 12 vs Selección
Grupo control	-0,29	3,4	5,75	-1,75	11,6
Grupo 4	-9,12	-21,5	-26,43	-33,57	-35,4
p-valor	0,021	0,013	0,08	$p < 0,0001$	0,012
IC95%		(6.21, 43.09)	(10.82, 53,54)	(18.51, 45.13)	(15.95, 78,05)

Perímetro gemelar

No se observan diferencias estadísticamente significativas entre las medidas del perímetro gemelar en el momento inicial y en las visitas de seguimiento de los meses 1, 3, 6, 9 y 12, entre los cuatro grupos de tratamiento ni entre control vs tratamiento.

“Indicador de vasculogénesis”

La Variable “Indicador de vasculogénesis” definirá la ausencia o presencia de indicios de creación de nuevos vasos.

Se realizará el cálculo de la variable para cada paciente en miembro diana en los meses 1 y 12.

Resumen del procesamiento de los casos

	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Indicador de vasculogénesis (mes 12 con respecto a visita basal) * Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)	53	88,3%	7	11,7%	60	100,0%

Tabla de contingencia Indicador de vasculogénesis (mes 12 con respecto a visita basal) * Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)

		Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)		Total	
		Grupo control	Grupo tratamiento		
Indicador de vasculogénesis (mes 12 con respecto a visita basal)	,00	Recuento	5	1	6
		% dentro de Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)	45,5%	2,4%	11,3%
		% del total	9,4%	1,9%	11,3%
1,00	Recuento	4	8	12	
	% dentro de Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)	36,4%	19,0%	22,6%	
	% del total	7,5%	15,1%	22,6%	
2,00	Recuento	1	19	20	
	% dentro de Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)	9,1%	45,2%	37,7%	
	% del total	1,9%	35,8%	37,7%	
3,00	Recuento	1	12	13	
	% dentro de Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)	9,1%	28,6%	24,5%	
	% del total	1,9%	22,6%	24,5%	
4,00	Recuento	0	2	2	
	% dentro de Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)	,0%	4,8%	3,8%	
	% del total	,0%	3,8%	3,8%	
Total	Recuento	11	42	53	
	% dentro de Grupo de aleatorización (control vs tratamiento)	100,0%	100,0%	100,0%	
	% del total	20,8%	79,2%	100,0%	

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	20,331 ^a	4	,000
Razón de verosimilitudes	18,458	4	,001
Asociación lineal por lineal	14,185	1	,000
N de casos válidos	53		

a. 7 casillas (70,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,42.

Con las reservas oportunas, pues sólo de 31 de los 60 pacientes se disponen de información de todas las variables incluidas en el indicador de vasculogénesis, y a modo de hallazgo que nos permita proponer posibles hipótesis en futuros estudios observamos que en el grupo de tratamiento el porcentaje de pacientes en el que el indicador de vasculogénesis es mayor o igual que dos es del 79% frente al del grupo control que es del 18,2%. Esta diferencia parece importante e incluso el estadístico parece ir en el sentido de que esas diferencias son “significativas” entre ambos grupos de tratamiento.

Tabla de contingencia Indicador de vasculogénesis (mes 12 con respecto a visita basal) * Grupo de tratamiento del paciente

			Grupo de tratamiento del paciente				Total
			Grupo 1 (Control)	Grupo 2 (nivel-1x108 de mo-CMNs)	Grupo 3 (nivel-5x108 de mo-CMNs)	Grupo 4 (nivel-1x109 de mo-CMNs)	
Indicador de vasculogénesis (mes 12 con respecto a visita basal)	,00	Recuento	5	1	0	0	6
		% dentro de Grupo de tratamiento del paciente	45,5%	7,1%	,0%	,0%	11,3%
		% del total	9,4%	1,9%	,0%	,0%	11,3%
	1,00	Recuento	4	2	4	2	12
		% dentro de Grupo de tratamiento del paciente	36,4%	14,3%	28,6%	14,3%	22,6%
		% del total	7,5%	3,8%	7,5%	3,8%	22,6%
	2,00	Recuento	1	5	7	7	20
		% dentro de Grupo de tratamiento del paciente	9,1%	35,7%	50,0%	50,0%	37,7%
		% del total	1,9%	9,4%	13,2%	13,2%	37,7%
	3,00	Recuento	1	4	3	5	13
		% dentro de Grupo de tratamiento del paciente	9,1%	28,6%	21,4%	35,7%	24,5%
		% del total	1,9%	7,5%	5,7%	9,4%	24,5%
4,00	Recuento	0	2	0	0	2	
	% dentro de Grupo de tratamiento del paciente	,0%	14,3%	,0%	,0%	3,8%	
	% del total	,0%	3,8%	,0%	,0%	3,8%	
Total	Recuento	11	14	14	14	53	
	% dentro de Grupo de tratamiento del paciente	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
	% del total	20,8%	26,4%	26,4%	26,4%	100,0%	

CONCLUSIONES DEL ANÁLISIS DE INDICIOS DE EFICACIA

Respecto al análisis de las variables principales de eficacia previstas en el presente ensayo clínico, y con las limitaciones que ha supuesto la falta de datos de las angiografías de seguimiento en algunos pacientes del grupo control, podemos concluir que **la administración de células mononucleadas de médula ósea autóloga en infusión intraarterial para el tratamiento de la isquemia crítica crónica de miembros inferiores en pacientes diabéticos, muestra indicios claros de eficacia, que se ponen de manifiesto en el análisis de varias de las variables principales y secundarias analizadas.**

Así, al final del seguimiento, 12 meses, el 37% de los pacientes tratados presentaban una mejora en su **escala de vascularización** medida angiográficamente. Esta mejora ya se detectó a los 6 meses de seguimiento en el 29% de los pacientes, por lo que,

podemos observar que el efecto de la infusión es mantenido en el tiempo, en contra de lo que cabría suponer por la evolución natural de la enfermedad.

Otra variable de eficacia analizada que se muestra como un buen indicador del efecto de la terapia celular, fue la medida de la **presión transcutánea de oxígeno**, cuyo valor fue aumentando a lo largo de los meses de seguimiento en el grupo de tratamiento, mientras que no siguió un patrón claro en el grupo control. *El cambio fue observado ya al mes del tratamiento, con diferencias significativas entre ambos grupos. Tras 12 meses de seguimiento, la mejora en este parámetro seguía siendo muy superior en el grupo tratado con terapia celular, manteniéndose la significación estadística.*

Igualmente notables fueron los cambios observados en la **escala Rutherford-Becker**, donde se ponen de manifiesto diferencias muy significativas a los 12 meses de seguimiento *entre la mejora observada en los grupos de tratamiento y en el grupo control. Estas diferencias, a favor del grupo de pacientes que recibió terapia celular, son estadísticamente muy significativas ($p < 0,01$), sin observarse influencia de la dosis administrada.*

Respecto a la evolución de las úlceras, y aunque su análisis debe tomarse con cautela por el pequeño tamaño de la muestra, ya que no todos los pacientes presentaban úlceras, tomados en conjunto, en el grupo de tratamiento se observa una reducción en el **tamaño de la úlcera** (diámetro máximo de la úlcera) a lo largo del seguimiento del ensayo con respecto a la medida inicial.

Esta reducción fue significativamente mayor que la observada en el grupo control en los meses de seguimiento 3, 9 y 12. *Analizando los grupos individualmente, aunque la tendencia fue marcada en todas las dosis, sólo los pacientes tratados con la dosis más alta, presentaron una reducción del tamaño de la úlcera significativamente diferente a la del grupo control.*

Respecto al **salvamento de miembros**, la tasa de amputaciones mayores fue inferior en el grupo de pacientes tratados tomados globalmente (8,9% frente a 20%). Y aunque la diferencia no alcanzó una significación estadística debido a la tasa de amputación relativamente baja en ambos grupos, las diferencias son importantes desde el punto de vista clínico.

El resto de las variables analizadas: Los parámetros cuantitativos obtenidos del análisis de la imagen con Metamorph, los valores del Índice tobillo-brazo, o las medidas del Perímetro gemelar, no mostraron diferencias entre los grupos analizados.

Aunque en el diseño del estudio no se planteó el análisis de una variable clínica combinada, y por lo tanto, su interpretación no sería de mucha utilidad, los resultados obtenidos en las variables que mostraron una tendencia de significación estadística, nos llevaron a construir una variable combinada, que llamamos **Indicador de vasculogénesis**, en la que se incluyeron 4 parámetros de valoración: cambios en la escala cualitativa de vascularización, cambios en la presión transcutánea de oxígeno, cambios en el Grado de Rutherford-Becker y cambios en el tamaño de la úlcera (cuando exista úlcera), tal como se describe en el apartado de análisis.

Con las reservas oportunas, pues sólo de 31 de los 60 pacientes se disponen de información de todas las variables incluidas en el indicador de vasculogénesis, y a modo de hallazgo que nos permita proponer posibles hipótesis en futuros estudios observamos que en el grupo de tratamiento el porcentaje de pacientes en el que el indicador de vasculogénesis es mayor o igual que dos es del 79% frente al del grupo control que es del 18,2%. Esta diferencia parece importante e incluso el estadístico parece ir en el sentido de que esas diferencias son “significativas” entre ambos grupos de tratamiento.

CONCLUSIONES DEL ENSAYO CLÍNICO

La isquemia crítica de miembros inferiores (CLI) es una de las manifestaciones más severas de aterosclerosis que puede conllevar la amputación del miembro e incluso la muerte si no se consigue una rápida y eficaz revascularización.

En el paciente diabético el cuadro de isquemia crítica de la pierna se desarrolla más precozmente y con mayor intensidad. El objetivo principal del tratamiento de CLI es la revascularización, bien quirúrgica o endovascular. Sin embargo, en una gran proporción de estos pacientes (20-30%), la extensión anatómica y la distribución de la enfermedad oclusiva arterial hace que no sean candidatos a la revascularización, y que la enfermedad siga su inexorable curso hacia la amputación y la muerte.

La angiogénesis es un proceso dinámico de proliferación y diferenciación endotelial. La médula ósea del adulto representa un rico reservorio de diferentes tipos de células progenitoras entre las que se incluyen las endoteliales. La ventaja de la administración celular en la inducción de la angiogénesis, es que podría promover la regeneración vascular y tisular de forma directa y también la liberación de diferentes factores de crecimiento angiogénico

La hipótesis de la que partió el presente ensayo consistió en que las células mononucleadas de la médula ósea (mo-CMNs) proporcionan células progenitoras con capacidad regenerativa y secretan, además, varios factores angiogénicos, y que su implantación en los tejidos isquémicos debe contribuir con ambos elementos a la angiogénesis y regeneración tisular con recuperación de la circulación en la extremidad afectada.

Los objetivos del ensayo clínico fueron:

- Evaluar la seguridad y factibilidad del autotrasplante de células mononucleadas de médula ósea (mo-CMNs) autóloga administradas por vía intraarterial en el miembro afecto de pacientes diabéticos con isquemia crónica crítica de los miembros inferiores sin posibilidades de revascularización ni otras alternativas terapéuticas.
- Comparar el efecto de tres dosis crecientes de mo-CMNs en la recuperación de parámetros clínicos, angiológicos y angiográficos en pacientes diabéticos con

isquemia crítica de miembros inferiores con un grupo control que solo lleva el tratamiento convencional.

- Analizar las complicaciones derivadas de la terapia regenerativa en sí, de la vía de administración y/o de los procedimientos del estudio.

Los resultados del presente ensayo clínico fase II sobre la Angiogénesis Terapéutica con Células Mononucleadas de Médula Ósea Autóloga en pacientes Diabéticos con Isquemia Crónica Crítica de miembros inferiores no revascularizables apoyan la hipótesis de partida y demuestran que la administración intraarterial de células mononucleadas obtenidas de la médula ósea del propio paciente, es un tratamiento factible y seguro en este tipo de pacientes, que no da lugar a complicaciones derivadas de la terapia regenerativa en sí, de la vía de administración ni de los procedimientos del estudio.

Además, el tratamiento presenta indicios claros de eficacia, como se puede concluir de las diferencias observadas entre los pacientes tratados con terapia celular y los del grupo control, en diversas variables analizadas que se consideran indicadores de la vasculogénesis: cambios en la escala de vascularización, en la Presión transcutánea de Oxígeno, en la escala Rutherford-Becker, en el tamaño de la úlcera, y en el número de amputaciones mayores realizadas.

El presente ensayo clínico en cambio, no aportó resultados claros sobre la mayor o menor eficacia de alguna de las dosis estudiadas. Probablemente, el pequeño tamaño de la muestra, con 15 pacientes en cada grupo, haya hecho imposible alcanzar una significación estadística clara. Solamente, en el caso de los cambios en el tamaño de la úlcera se observó una tendencia clara a favor de la dosis más alta utilizada.

Sin embargo, alguna de las variable estudiadas, no mostraron los resultados esperados. El algún caso, como en el de los parámetros cuantitativos obtenidos del análisis de la imagen con Metamorph, la interpretación de las imágenes fue muy difícil debida a problemas técnicos y a la variabilidad que se introdujo en la realización de las pruebas por los distintos centros participantes. Como resultado, esta técnica, que anteriormente había resultado de utilidad, no dio resultados de interés en el presente ensayo clínico. Otras variables, como el Índice tobillo-brazo, o el perímetro gemelar, tampoco demostraron utilidad, debido probablemente a las calcificaciones existentes en muchos casos.

La experiencia obtenida en la realización de este estudio, más allá de los resultados analizados desde el punto de vista estadístico, será de gran utilidad para las investigaciones futuras.

En este sentido, en las angiografías realizadas a los pacientes del ensayo se analizaron algunos parámetros radiológicos que pueden ser de mucho interés en próximos estudios:

La escala de vascularización, utilizada inicialmente para la valoración cualitativa de la angiogénesis se basa fundamentalmente en la longitud de las ramificaciones septales que van hacia el tejido celular subcutáneo de las arterias infrapoplíteas. Esta escala

puede ser una herramienta útil en combinación con otros hallazgos, como la existencia de uno, dos o tres vasos infrapoplíteos permeables, y la existencia o no de recanalización distal a pedia y arcada plantar posterior, para clasificar inicialmente a los pacientes en diferentes estadios de afectación distal, y posiblemente pueda ser un predictor de respuesta a la terapia celular.

En cuanto al seguimiento angiográfico y la valoración objetiva de la angiogénesis, parece más factible el análisis de la presencia o ausencia de nuevos vasos y/o crecimiento de los pre-existentes, graduando estos parámetros de una forma escalonada del 0 al 2, siendo 0 la no existencia de vasos nuevos, 1, la presencia de algún vaso nuevo, y 2, de muchos vasos nuevos. Esta nueva escala, convenientemente desarrollada, facilitaría el correcto seguimiento de la actividad angiogénica tras la terapia celular.

Por último, otros aspectos radiológicos en los que parece necesario profundizar, a raíz de los resultados del presente estudio son: la velocidad de vaciado del contraste en territorio infrapoplíteo (medición indirecta de un mejor flujo distal), las variaciones en la densidad del contraste y el calibre de los vasos (a mayor densidad y calibre, mejor flujo), la búsqueda de indicadores del empeoramiento natural de la enfermedad, el desarrollo de estructuras semejantes a los angiomas y la aparición de fístulas arteriovenosas.

En otro orden de cosas, las variables analizadas, si bien muestran una relación con la probable vasculogénesis asociada a la infusión de células mononucleadas de médula ósea, no se corresponde de forma lineal con la percepción de mejoría clínica manifestada por los pacientes y observada de forma subjetiva por los médicos responsables. Lamentablemente, en el presente protocolo no se incluyeron escalas de calidad de vida. Estas escalas, deberán incluirse sin duda en estudios futuros.

Por otro lado, los resultados obtenidos, apuntan a la utilidad de elaborar una variable clínica combinada para medir la eficacia de esta terapia celular. Esta variable podría incluir parámetros clínicos, como la amputación o no de miembros, test de la marcha, test de calidad de vida, o medidas del tamaño de la úlcera.

Concluimos por tanto, que, demostrada, en el presente ensayo clínico Fase II, la factibilidad, seguridad, e indicios de eficacia de la administración intraarterial de células mononucleadas de médula ósea autóloga en pacientes diabéticos con isquemia crítica de miembros inferiores no revascularizables, se hace necesaria la realización de un ensayo clínico Fase III, en una población más extensa, con un diseño que permita confirmar la eficacia de esta terapia, sobre aspectos claves, como el salvamento de miembros o la calidad de vida de los pacientes, además de la mayoría de los aquí analizados.