

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE

CIEGO DE ÁVILA

HOSPITAL PROVINCIAL ANTONIO LUACES IRAOLA

*Restauración neurológica con células madres movilizadas
desde la médula ósea en pacientes con enfermedad cerebro
vascular isquémica.*

Autor: Dr. Carlos Manuel Pérez Aguila.

*Trabajo para optar por el título de especialista de Primer
grado en Neurología.*

Ciego de Ávila

2019

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE

CIEGO DE ÁVILA

HOSPITAL PROVINCIAL ANTONIO LUACES IRAOLA

**Restauración neurológica con células madres movilizadas desde la médula
ósea en pacientes con enfermedad cerebro vascular isquémica.**

TESIS EN OPCIÓN A ESPECIALISTA DE 1^{ER} GRADO EN NEUROLOGÍA

Autor: Dr. Carlos Manuel Pérez Aguila.

Residente de 3^{er} año en

Neurología.

Asesor: Dr. Asdrubal Benito García López

Especialista de 1^{er} Grado en MGI y Neurología.

Tutor: Dr. Volfredo José Camacho Assef

Especialista de 2^{do} grado en Medicina Intensiva.

2019

Resumen

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo y aleatorizado, llevándose a cabo en la Unidad de Cuidados Cerebrovascular del Hospital Antonio Luaces Iraola. Se relacionó dos grupos de pacientes usando un Muestreo simple Aleatorio, el grupo control estuvo comprendido por los pacientes que ingresaron los días impares, este grupo recibió el tratamiento protocolizado para los accidentes vasculares encefálicos isquémicos, el Grupo en estudio, comprendió los pacientes que ingresaron en los días pares, este recibió el tratamiento protocolizado para los accidentes vasculares encefálicos isquémicos, y sus complicaciones más el factor estimulante de las colonias de Granulocitos (FSC-G). Para la recogida de los datos se confeccionó historias clínicas y encuestas. Se Demostró la inocuidad de este fármaco el aumento de las células mononucleadas y cierto beneficio clínico.

Palabras claves: Enfermad cerebrovascular isquémica, tratamiento, factor estimulante de las colonias de Granulocitos

INDICE

Resume

Introducción----- 8-10

Objetivos----- 11

Marco teórico----- 12-19

Diseño metodológico ----- 20-31

Resultados----- 32-38

Discusión----- 39-41

Conclusiones----- 42

Recomendaciones----- 43

Referencias bibliográficas----- 44-50

Anexos

PENSAMIENTO

Busca, en todo, lo que es; y nunca lo que te parezca o ambiciones que sea.

Almafuerte

DEDICATORIA

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

A todo aquel que de una forma u otra ha tenido que ver con lo que ahora soy.

INTRODUCCIÓN

El término enfermedad cerebro vascular podemos definirla, como el síndrome neurológico focal repentino, causado por trastornos de los vasos cerebrales los cuales incluyen la oclusión por un émbolo o un trombo, la rotura de un vaso, la alteración de la permeabilidad de la pared celular o el incremento de la viscosidad de la sangre. (1)

Las enfermedades cerebrovasculares en nuestro país al igual que en países desarrollados como lo Estados Unidos, son la tercera causa de muerte en la población general siendo solo superada por las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. (2)

En esta entidad nosológica intervienen factores metabólicos y fisiológicos que huelgan conocerlos ya que cualquier intervención terapéutica debe estar dirigida a este punto. Con valores de flujo sanguíneo por debajo de 10 a 12 ml/100g/min origina infarto independientemente de su duración, esto produce la acumulación del potasio extracelular y una acumulación del calcio intercelular y el agotamiento del ATP el aumento del ácido láctico en conjunto con los radicales libres liberados producen el daño celular estos procesos pueden ser revertidos si se logra la reperfusión en las primeras horas. (3)

Por ahora, el activador tisular del plasminogeno (TPA) es la única terapia farmacológica aprobada por la FDA para el accidente cerebrovascular isquémico agudo, el TPA fue aprobado para la terapia trombolítica del accidente cerebrovascular isquémico agudo cuando están dentro de las 4,5 h del comienzo

del accidente cerebrovascular, este tratamiento con tPA está limitado por esta estrecha ventana de tiempo, así como por un mayor riesgo de hemorragia intracraneal (1,2), motivo por el cual hoy se estudian otras opciones terapéuticas.

Fundamentación:

La enfermedad cerebro vascular (ECV) es responsable del 9% de las muertes en el mundo desarrollado, y constituyen la segunda causa de muerte; sólo superados por las enfermedades isquémicas del corazón. Aproximadamente, la cuarta parte de los pacientes que sufren ECV mueren el primer mes y la otra mitad antes del año. Estas son además la primera causa de discapacidad en el mundo, y con el aumento progresivo de la edad poblacional, su incidencia y las consecuencias sociales y económicas de las discapacidades se esperan que aumenten progresivamente.

Hasta el presente, el único tratamiento disponible para disminuir el tamaño de la zona isquémica mediante la fibrinólisis, es el activador tisular del plasminógeno, pero su estrecha ventana terapéutica de 4.5 horas desde el comienzo de los síntomas limitan su aplicación al 2-4 % de los pacientes con accidentes vasculares isquémicos en evolución.

El conocimiento de que el daño ocasionado por la isquemia encefálica se completa en las primeras 24 a 48 horas, ha estimulado el desarrollo y aplicación de tratamientos neuro restauradores con factibilidad de aplicarse en las primeras horas. La terapia neuro regenerativa dirigida a estimular procesos tales como la neurogénesis, la angiogénesis y la sinaptogénesis, es hoy una posibilidad

terapéutica real en pacientes con isquemia encefálica en evolución. Esta modalidad terapéutica no necesita de grandes recursos tecnológicos y económicos, y puede iniciarse a partir de las primeras horas de evolución del cuadro isquémico y extenderse por varios días, beneficiando de esta forma a gran número de Pacientes.

Problema de la investigación:

Necesidad de confirmar la efectividad del tratamiento con el factor estimulante de las colonias granulocíticas en los pacientes con enfermedad cerebro vascular isquémica. El objeto de la investigación es el esquema de tratamiento con el factor estimulante de colonias granulocíticas en los pacientes con enfermedad cerebro vascular isquémica.

Hipótesis:

La aplicación de factor estimulante de colonias granulocíticas, estimula los procesos de neuro regeneración en los pacientes con accidentes encefálicos isquémicos, y mejora de forma significativa su supervivencia, recuperación, evolución y pronóstico.

OBJETIVOS

General:

- Evaluar los resultados del tratamiento con células madres movilizadas desde la médula ósea, en pacientes con Enfermedad cerebro vascular isquémico del territorio de la arteria cerebral media con menos de 24 horas de evolución

Específicos:

- Desarrollar y validar; utilizando el factor estimulante de las colonias de Granulocitos (FEC-G), una metodología para la movilización hacia la sangre periférica de células madres procedentes de la médula ósea.
- Demostrar que la aplicación sistemática de factores de crecimiento hematopoyéticos FEC-G, incrementa la Neurogénesis y neuro protección encefálica, con la mejoría subsecuente de las funciones sensitivas, motoras y cognitivas.

MARCO TEÓRICO

Por mucho tiempo la neurobiología pensó que no existía neurogénesis después del nacimiento. Actualmente sabemos que hay neurogénesis adulta en todos los vertebrados, incluida la especie humana, pero también es cierto que esta neurogénesis es más amplia, respecto al número de centros nerviosos involucrados, en los vertebrados menos evolucionados, como reptiles y aves. (4)

En los mamíferos, la Neurogénesis está restringida de forma natural a dos centros, los bulbos olfatorios (BO) y la fascia dentada del hipocampo (fdH). Las células madres responsables de esta neurogénesis se encuentran en las paredes de los ventrículos laterales. Desde estas paredes las nuevas neuronas migran tangencialmente formando cadenas por el denominado camino rostral migrador (RMS). El RMS está formado por las células migratorias y los astrocitos fijos que las envuelven y que constituyen los gliotubos.

Esta organización ha sido descrita recientemente en primates. En las paredes de los ventrículos laterales, además de las células ependimarias, encontramos células migratorias (células tipo A), células de amplificación (células tipo C) y astrocitos (células tipo B). Estos últimos, a los que se les considera las células madre, proceden directamente de la glía radial embrionaria y en cultivo dan lugar a neuroesferas, que pueden diferenciarse en astrocitos, oligodendrocitos y neuronas. También sabemos que estos astrocitos necesitan tocar la cavidad ventricular y emitir un corto cilio.

Probablemente la interacción de moléculas desconocidas (posiblemente de la familia de *sonic hedgehog* y factores de crecimiento del líquido cefalorraquídeo con este cilio provoquen la activación de la neurogénesis. Mutaciones de este cilio provocan que la Neurogénesis no se produzca. (4)

Actualmente se desconoce si hay neurogénesis adulta, o si existe una migración tangencial como la descrita en ratones o primates. Pero si se conoce que hay células madre, que son capaces de formar neuroesferas en cultivo y de diferenciarse en astrocitos, oligodendrocitos y neuronas o sea que se conoce de la existencia de células madres en el cerebro de todos los vertebrados incluyendo al hombre, pero se desconoce aún como inducir su proliferación y su migración hacia las zonas de daño. (4)

En la actualidad no existe una terapia neuro protectora eficaz conocida. Los estudios preclínicos prometedores se han centrado en las vías únicas para lograr la neuro protección, Sin embargo, el fracaso de los ensayos clínicos que investigan estrategias neuro protectoras sugiere que las vías múltiples deben ser interrumpidas en los seres humanos para lograr un éxito.

La terapia de reemplazo celular pudiera ser una de estas vías. Las células madre son células indiferenciadas que pueden especializarse en múltiples tipos de células y pueden auto-renovarse. La pato-fisiología del accidente cerebrovascular puede ser particularmente susceptible a la terapia con células madre.

Después de la lesión inicial y los cambios asociados, no hay un proceso neurodegenerativo duradero que inhiba la recuperación. Dos líneas principales de

terapias de células madre para el accidente cerebrovascular han surgido: estrategias endógenas que se centran en facilitar la movilización, la longevidad y la producción de células madre neurales existentes y tratamientos exógenos en los que las células son trasplantadas de otra fuente en un paciente.

Como métodos potenciales para estimular la proliferación es el enfoque caracterizado por el uso de factores reguladores que han estado implicados en la neurogénesis, como el factor neurotrófico derivado de glial, el factor neurotrófico derivado del cerebro, Factor de crecimiento endotelial vascular, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor de crecimiento fibroblástico básico 2, factor de crecimiento similar a insulina 1, proteína 7 morfogenética ósea, factor de crecimiento epidérmico y factor de crecimiento transformante α . Ensayos clínicos en curso están investigando el papel dual del G-CSF, la activación de células endógenas de médula ósea y neuro protección, para determinar la eficacia en la recuperación del ictus. Una revisión reciente de 10 estudios que incluyeron 711 pacientes informó que el G-CSF es seguro y bien tolerado. Por otra parte, el G-CSF puede fomentar la recuperación funcional, medida por la Escala de Accidentes Cerebrovasculares de los Institutos Nacionales de Salud y Escala de Rankin modificada. (5)

En cuanto al tema de la neuro protección por inducción de células madres Otro probable mecanismo de protección sería la proliferación de las células gliales causada por la hormona del crecimiento (GH), debido al papel fundamental ejercido por la glía en el intercambio de iones entre las células de la corteza y el

espacio intercelular. En los cultivos sometidos a radioterapia, la glía ejerce una función radio protectora captando el glutamato extracelular y disminuyendo su toxicidad para las células presentes en los cultivos. Esta acción probablemente se limita a las células que presentan receptores para la GH en sus membranas, con el fin de que esta hormona pueda ejercer su efecto protector. (6)

El G-CSF es una hormona glicoproteica codificada por un solo gen localizado en el cromosoma 17 q11-223; Desempeña un papel clave en la regulación de la granulopoyesis y es responsable de la maduración terminal de los neutrófilos. El G-CSF recombinante se utiliza para el tratamiento de la neutropenia y para la producción de células madre hematopoyéticas CD34 + (HSC) para el trasplante de médula ósea. Al considerar el G-CSF como tratamiento potencial para el accidente cerebrovascular, los mecanismos de acción parecen ser multimodales. Experimentalmente, la neuro protección se produce reduciendo la apoptosis en la penumbra isquémica y atenuando la cascada inflamatoria. (7)

También parece ser neuro reparativa a través de la potenciación de la angiogénesis y la neurogénesis, en parte activando las células endoteliales cerebrales y movilizandolas para migrar a la lesión isquémica. Se ha demostrado que las células madres derivadas de la médula ósea se diferencian en neuronas y glía, y se ha observado que los trasplantes experimentales de HSC mejoran el resultado después del ictus.

Utilizando este fármaco se realizó un ensayo prospectivo, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, fase IIb de G-CSF en pacientes con

accidente cerebrovascular subagudo. A la luz de las pruebas y de un reciente ensayo negativo que evaluó la administración de eritropoyetina (otro factor estimulante de colonias) dentro de las 6 horas posteriores al ictus isquémico, se requieren otros 21 ensayos de fase II / III para evaluar la seguridad y la eficacia del G-CSF. En resumen, este ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo sugiere que el G-CSF es seguro cuando se administra de forma subaguda. (7)

Hallazgos recientes sobre los eventos fisiopatológicos después del accidente cerebrovascular isquémico agudo sugieren que la angiogénesis juega un papel crítico en la mejora de la recuperación a largo plazo de los pacientes. (8) Típicamente, los pacientes ancianos tienden a tener niveles más bajos de formación de nuevos vasos después del accidente cerebrovascular, lo que puede estar asociado con tasas más bajas de recuperación funcional. La angiogénesis y la maduración vascular están reguladas por muchos factores, como el sistema Angiopietin-1 (Ang1), factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). La administración endovenosa de células del cordón umbilical produce factores que pueden ser beneficiosos para el cerebro huésped in vivo. El beneficio neurológico se deriva principalmente al desencadenar la liberación de factores tróficos y de crecimiento, ya que un porcentaje muy pequeño de células migran, se diferencian y contribuyen a la neuro protección / restauración. (9)

En la actualidad se han desarrollado numerosos estudios con todos los tipos de células madre, como células madre neurales (NSC), células madre mesenquimales de médula ósea (MSC) y células madre mesenquimales de cordón umbilical (UC-MSC), los cuales ofrecen resultados heterogéneos. (10,11)

El ensayo clínico ReNeuron en fase I del Reino Unido, denominado "Investigación piloto de células madre en accidente cerebrovascular" (PISCES, NCT01151124), 1 (NCT01287936). ReNeuron empleó una línea celular neuronal modificada genéticamente (CTX-DP) derivada del cerebro fetal humano, Mientras que SanBio utilizó células madre mesenquimatosas alogénicas modificadas (SB623), derivadas de células estromales de médula ósea aisladas de donantes sanos. Ambos estudios informaron seguridad de las células CTX-DP (estas son células modificadas genéticamente) y SB623 a los 12-24 meses tras el trasplante intracerebral en pacientes con ictus crónico, claro que la eficacia no se ha validado por el escaso número de pacientes. (12)

Estudios animales y clínicos han confirmado el efecto terapéutico de las células madre mesenquimales de la médula ósea sobre la isquemia cerebral, pero sus mecanismos de acción siguen siendo poco conocido; un estudio reciente mostró mejoras en la función neurológica (es decir, mediante prueba funcional sensoriomotor) estas terapias basadas en células xenogénicas de manera segura y eficaz proteger el cerebro de la isquemia en roedores.

El trasplante de estas células se realiza principalmente mediante métodos intracraneales e intravasculares. La técnica intracraneal se refiere a la inyección

estereotáctica. Después de la inyección directa en el cuerpo estriado, más BMSCs son capaces de alcanzar el daño cerebral objetivo y el número de células utilizadas es pequeño y el tiempo de inicio es corto. Otro método de administración intracraneal es la inyección intraventricular. Su éxito depende de la migración de las células trasplantadas y sus habilidades para adaptarse al líquido cefalorraquídeo y sobrevivir transitando la barrera hematoencefálica. Debido a que el trasplante intracraneal es invasivo, las inyecciones múltiples en la zona del infarto causan daño mecánico de tejidos y células locales. (13, 14, 15,16)

Estas terapias de células alogénicas en la actualidad parece ser posterior accidente cerebrovascular subagudo o potencialmente crónico. La aceptabilidad y la factibilidad de la implantación intracerebral directa en las primeras etapas posteriores al accidente cerebrovascular deben ser establecidas, pero existen preocupaciones sobre la seguridad de la anestesia y la neurocirugía en las primeras semanas a meses después de la intervención y dado que este es el período en que la mayoría de los pacientes están experimentando Su recuperación más rápida (17), muchos estudios de este tipo informan Resultados positivos donde los efecto adverso mostrados , Ninguno estaba relacionado con el tratamiento celular (18,19), en este aspecto solo hemos encontrado un artículo que describe la aparición de Novo de una Mal formación Arteriovenosa secundaria a la implantación de Células madre Mesenquimal Alogénico Genéticamente Modificado en el cerebro.(20)

En estos días La terapia con células mononucleares de la médula ósea (BM-MNC) ha surgido como una terapia potencial para el tratamiento del ictus el tratamiento con Factor Estimulante de Granulocitos-Colonia (G-CSF) logra movilizar estas células desde la medula ósea, en ratas envejecidas tiene principalmente un efecto beneficioso sobre el resultado funcional más probable mediante procesos celulares de soporte tales como Neurogénesis; si bien esta terapia ha demostrado ser segura en humanos , la literatura sugiere evidencias contradictorias para la eficacia de la terapia con BM-MNC en pacientes con ictus, lo que puede explicarse en base a heterogeneidad significativa, sesgo de selección, sesgo de publicación y sesgo del investigador. Por lo tanto, más ensayos controlados aleatorios son necesarios para la toma de decisiones informadas basadas en pruebas más sólidas con respecto al uso de BM-MNC terapia para pacientes con ictus. Un metaanálisis puede ayudar en la construcción de pruebas de mayor calidad y planificación. (21,22)

DISEÑO METODOLÓGICO

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo y aleatorizado a partir del 15 de septiembre de 2017, hasta el 15 de septiembre de 2018.

La investigación se llevó a cabo en la Unidad de Cuidados Cerebrovascular del Hospital Antonio Luaces Iraola, la cual ingresa un promedio de 10 pacientes mensuales, de los cuales, se estimó, que más del 30% reunió los criterios de inclusión. Sobre la base de los ingresos hechos, se registró un promedio de 5 pacientes mensuales, para un total de 60 pacientes en el año de estudio, divididos al azar entre el grupo control y el grupo testigo.

Grupo control, estuvo comprendido por los pacientes que ingresaron los días impares (a partir del 15 de septiembre 2015) y cumplieron los criterios de inclusión. Este grupo recibió el tratamiento protocolizado para los accidentes vasculares encefálicos isquémicos, y sus complicaciones durante 10 días, según el protocolo de diagnóstico y tratamiento de la enfermedad cerebrovascular del hospital Antonio Luaces Iraola.

Grupo en estudio, comprendió los pacientes que ingresaron los días pares (a partir del 16 de septiembre 2017), y cumplieron los criterios de inclusión. Este grupo, recibió el tratamiento protocolizado para la enfermedad vascular encefálica isquémica, y sus complicaciones más FSC-G Hebevital, dosis promedio 10 mcg/kg/día, subcutáneo, durante 10 días consecutivos (ver dosis y vía de administración).

Para evaluar el grado de adherencia y cumplimiento del tratamiento protocolizado en ambos grupos, se diseñó un instrumento de evaluación específico (Anexo 1), que fue aplicado por evaluadores independientes.

Se realizó monitoreo periódico de los leucocitos en sangre antes de iniciar el tratamiento, al tercer, séptimo y décimo. La dosis de FSC-G se elevará a 1200 mcg/día subcutáneo si el conteo absoluto de Células mononucleadas (CMN) permanece por debajo de 20 000 cel/mm³ al tercer día de tratamiento. El paciente fue excluido de la investigación (criterio de salida), si al séptimo día, el conteo absoluto de CMN no rebasa 20 000 cel/mm³. Se suspenderá la aplicación de FSC-G, si en cualquier determinación el conteo absoluto de neutrófilos alcanza la cifra de 90 000 cel/mm³, sin que esto constituya un criterio de salida de la investigación.

La base de datos se estableció sobre el sistema SPSS IBM (SPSS Statistics Version 20), para su análisis. Las características basales de los pacientes se tuvieron en cuenta para establecer el grado de homogeneidad entre grupos, atendiendo a edad, sexo, hábitos tóxicos; puntuación en la escala National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS), ventana terapéutica de tiempo en horas. Se establecerá la clasificación clínico-tomográfica del infarto cerebral en: troncular, superior, inferior y lenticuloestriado.

La presencia de comorbilidades fue dividida en metabólicas y no metabólicas de acuerdo al interés específico de la investigación. Las comorbilidades metabólicas

comprenden las categorías de hiperlipidemia, síndrome metabólico, diabetes mellitus e hiperuricemia. Dentro de las comorbilidades no metabólicas se establecieron las categorías de: fibrilación auricular, ataques transitorios isquémicos, cardiopatía isquémica e insuficiencia arterial periférica. Dentro de las comorbilidades metabólicas y no metabólicas se establecen además las categorías de “no comorbilidades y “otras para las categorías de interés no operacionalizadas.

Los pacientes de ambos subgrupos (con la finalidad de establecer diferencias evolutivas) fueron evaluados en las primeras 24 horas posteriores al ingreso, el 10 día (fecha que coincidirá con el alta hospitalaria en los pacientes que evolucionen de forma favorable), a los 30, 90 y 120 días con las escalas: NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale), escala modificada de Rankin, y la escala de Barthel. Todas las escalas evaluativas serán aplicadas por al menos dos de los médicos participante en la investigación. Las valoraciones de las escalas posteriores al alta fueron aplicadas por los médicos participantes en la investigación en la consulta de neurología.

Se estableció, de forma simultánea, un programa de monitoreo fármaco-epidemiológico, y vigilancia de reacciones adversas severas, con la finalidad de establecer la seguridad del fármaco y las posibles complicaciones asociadas al tratamiento.

En ambos grupos fueron registradas todas las complicaciones, neurológicas (coma, hidrocefalia, transformación hemorrágica, convulsiones, necesidad de

soporte vital avanzado, y no neurológicas (trombosis venosa profunda, sangramiento digestivo, sepsis intrahospitalaria).

En ambos grupos se realizó al ingreso, el tercero, séptimo y décimo día de tratamiento, hemograma completo con atención especial al conteo absoluto de neutrófilos (Anexo 2), conteo de plaquetas, así como la analítica básica: glucemia, creatinina, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, y enzimas hepáticas.

Fármaco, dosis y vía de administración:

El Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos FSC-G (Hebervital) es un potente factor de crecimiento neuronal con propiedades multimodales: antiapoptóticas, arteriogénicas y neurogénicas. En modelos animales estimula la regeneración funcional y estructural del SNC.

Presentación: EIFSC-G es un 20-kDa glicoproteína que se comercializa en bulbos de 1 ml que contienen: FSC-G 0,30 mg (30MU), sorbitol 50 mg, polisorbato 80:0,04 mg, acetato de sodio 0,123 mg, ácido acético 0,50 mg y agua. Csp 1,00 ml.

Dosis y vía de administración: Dosis promedio 10 mcg/kg/día (mínimo 9 máximo 13 mcg/kg/día) de FSC-G base, en dosis divididas, administrado durante 10 días consecutivos posteriores al ingreso, por vía subcutánea, sin sobrepasar en ningún caso la dosis total de 1200 mcg/día.

Peso del paciente en kg	Dosis (mcg/día)	Esquema de administración
Menos 65	600	1 bulbo s/c cada 12 horas
Entre 65 -90	900	1 bulbo s/c cada 8 horas
Más de 90	1200	2 bulbos s/c cada 12 horas
Cada bulbo contiene 300 mcg de FCE-G en 1 ml.		

La dosis inicial de FSC-G (en pacientes con peso inferior a 90 kg) se elevará a 1200 mcg/día si en el tercer día de tratamiento el conteo absoluto CMN permanece por debajo de 20 000 cel/mm³.

Se suspenderá la aplicación de FSC-G (sin excluir al paciente de la investigación), si el recuento absoluto CMN, en cualquiera de las determinaciones, sobrepasa la cifra de 90 000 cel/mm³.

Se selecciona la ventana terapéutica de tiempo menor de 24 horas teniendo en cuenta en cuenta las propiedades neuro regenerativas y neuro protectoras del FEC-G Hebevital.

Criterios de inclusión:

1. Edad entre 18 y 80 años.
2. Enfermedad cerebro vascular isquémica del territorio de la cerebral media.

3. Puntuación entre 5–24 (ambos inclusive) en la escala NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale).
4. Ventana terapéutica de 24 horas, desde el inicio de los síntomas del Ictus en curso, hasta la administración del FEC-G.

Criterios de exclusión:

1. ECV crítica (definido por una puntuación entre 25 – 42 puntos en la escala NIH Stroke Scale Scoring).
2. Deterioro neurológico debido a transformación hemorrágica.
3. ECV previo con escala de Rankin Scale >2.
4. Trombofilia u otra enfermedad hematológica primaria.
5. Sepsis severa al ingreso (definida según criterios de *Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012*).
6. Enfermedad neurodegenerativa.
7. Historia de neoplasia u otra comorbilidad que pueda impactar en la supervivencia del paciente en menos de un año.
8. Insuficiencia renal crónica de grado 3 o superior.
9. Dependencia de soporte vital avanzado.

10. Embarazo, puerperio y lactancia materna.

11. Participación previa en otro ensayo clínico.

Criterios de salida:

1. Negativa del paciente o familiar de continuar con el tratamiento.
2. Reacciones adversas mayores atribuibles a la administración del FEC-G.
3. Pacientes que fallezcan durante el período de seguimiento por causas no relacionadas con la ECV.
4. Pacientes que el séptimo día, mantengan el conteo absoluto de neutrófilos $\leq 20\,000$ cel/mm³.
5. Recuperación neurológica total 100 % antes de 6 horas desde el inicio de los síntomas.

Operacionalización de variables y definición de escala

No.	Variables	Definición	
		Conceptual	Operacional
Variables de caracterización de los pacientes			
1	Grupo. Nominal	Grupo control o grupo en estudio.	1: Control 2: En estudio
2	Edad Escala	Años cumplidos al momento del ingreso.	Años
3	Sexo	Definido según sexo biológico.	1: Femenino

	Nominal		2: Masculino
Hábitos tóxicos y comorvildades			
4	Tabaquismo Nominal	Hábito de fumar por más de 5 años, una o más cajetillas al día.	1: Sí. 2: No
5	Comorbilidades metabólicas Nominal	Presencia de comorbilidades metabólicas	1: Hiperlipidemia 2: DM tipo I 3: DM tipo II 4: Hiperuricemia 5: Síndrome metabólico 6: No comorbilidades metabólicas
6	Comorbilidades metabólicas Nominal	Presencia de comorbilidades o estados patológicos (con exclusión de los metabólicos) asociados	1: HTA 2: Fibrilación auricular 3: Cardiopatía isquémica 4: Insuficiencia arterial 5: ATI previos 6: Dos o más comorbilidades 7: No comorbilidades no metabólicas
Variables y escalas clasificatorias.			
7	Clasificación clínico topográfica. Nominal	Topografía del AVE isquémico de la cerebral media	1: Troncular 2: Superior 3: Inferior 4: Lentículo estriado

8	NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale). Escala	Explora nivel de conciencia, movimientos oculares horizontales, campo visual, parálisis facial, fuerza muscular en los 4 miembros, ataxia de miembro, sensibilidad, lenguaje, disartria y agnosia (visual, espacial, táctil, auditiva, anosognosia).	Se evalúa de 0 a 42 puntos
9	Escala modificada de Rankin Nominal	Índice global de salud, centrado en la discapacidad física.	Se evalúa de 0 a 6 puntos
10	Escala de Barthel Nominal	Escala de discapacidad	Se evalúa de 0 a 100 puntos
Variables relacionadas con el tratamiento			
11	Ventana terapéutica Escala	Tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta el inicio del tratamiento con FSC-Ge.	Tiempo en horas (de 0 a 24)
12	Reacciones adversas Nominal	Reacciones adversas mayores asociadas a la aplicación del FSC-G	
Variables de laboratorio			
13	Conteo absoluto de neutrófilos Escala	Determinación del conteo absoluto de neutrófilos por la siguiente fórmula: Conteo global X neutrófilos contados/100	Expresado en cel/mm ³
Variables relacionadas con la evolución y complicaciones			
14	Complicaciones neurológicas Nominal	Presencia de complicaciones neurológicas en ambos grupos.	1: Coma 2: Hidrocefalia. 3: Transformación hemorrágica. 4: Convulsiones. 5: Muerte. 6: No complicaciones.

15	Complicaciones no neurológicas Nominal	Presencia de complicaciones no neurológicas en ambos grupos.	1: TVP 2: Sangramiento digestivo 3: Sepsis intrahospitalaria 4: otras complicaciones 5: No complicaciones.
16	Estadía hospitalaria Escala	Tiempo transcurrido desde el ingreso hasta el egreso hospitalario	Expresado en días.
17	Estado al egreso Nominal	Estado físico del paciente al momento del egreso	1: Fallecido 2: Vivo con limitaciones neurológicas severas. 3: Vivo con complicaciones neurológicas menores.
Adherencia y cumplimiento del protocolo de tratamiento			
18	Adherencia al protocolo de tratamiento Nominal	Evaluación de la adherencia al cumplimiento del protocolo establecido	1: Total 2: Parcial 3: No adherencia

Procesamiento de la información y métodos estadísticos.

Los resultados obtenidos se procesaron mediante el programa SPSS versión 21.0, la información fue resumida en números y porcentajes. Los resultados se reflejaron en forma de tablas para facilitar su análisis e interpretación, y se compararon con otros estudios para arribar a conclusiones.

Se utilizó la prueba de independencia con estadígrafo chi cuadrado de Pearson para evaluar relación entre variables nominales y su corrección por continuidad de Yates para tablas 2x2, la prueba U de Mann-Whitney para evaluar variables cuantitativas que no seguían una distribución normal en 2 muestras independientes y la prueba de Friedman para evaluar relación entre variables cuantitativas que no seguían una distribución normal en más de 2 muestras relacionadas, fijando un nivel de significación de 0,05 y por tanto una confiabilidad del 95%.

Se plantearon las Hipótesis estadísticas que sustentan la realización de las pruebas donde:

H0: Hipótesis nula, de no diferencias o de no asociación.

H1: Hipótesis alternativa, plantea que las diferencias o la asociación es significativa estadísticamente.

Si $p > 0,05$. No existen evidencias significativas para rechazar la hipótesis nula, por lo que se plantea no diferencias o no asociación.

Si $p \leq 0,05$. Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa. Por lo que se acepta que existe relación entre las variables analizadas.

Síntesis y discusión de los resultados:

Se realizó una descripción de cada tabla. Se resaltaron los principales aspectos de interés, comparando nuestros hallazgos con los de otros autores, lo que nos permitió elaborar conclusiones y emitir recomendaciones.

Aspectos éticos: En el desarrollo de esta investigación se mantuvo como una premisa, respetar los principios bioéticos que van implícitos en los estudios con seres humanos. La información se obtuvo a través de preguntas y de un formulario de recogida de observaciones que se llenará a partir de los datos consignados en la historia clínica del paciente.

Se les pidió a los familiares de los pacientes seleccionados su consentimiento para participar en el estudio (Anexo 3). Se les explicó el carácter voluntario de declarar aquellos aspectos que no dañen su dignidad, se insistirá en el carácter confidencial de los datos y el manejo anónimo de los participantes, con el uso de códigos de identificación. La autonomía se mantuvo desde la decisión individual de participar o no en la investigación, por lo que cada paciente o familiar leerá, en presencia del investigador, la información necesaria y oportuna sobre el estudio, para posteriormente ambos firmar el acta de consentimiento informado.

La participación de los pacientes en la investigación, dependió del consentimiento informado. El documento mediante el cual se obtuvo el consentimiento se muestra en el (Anexo 3).

RESULTADOS

Tabla 1. Pacientes según grupo de estudio y edad. Ciego de Ávila. 2018.

Grupo	N	%	Edad en años				*p
			Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	
Estudio	19	48,7	69,4	7,2	56	80	0,955
Control	20	51,3	68,4	9,9	50	80	
Total	39	100,0	68,9	8,6	50	80	

*U de Mann-Whitney

En esta tabla se distribuyeron los pacientes con ictus según grupo de estudio y edad mostrando una media de edad en ambos grupos entre 69 y 68 años, lo cual es muy similar a lo descrito en la literatura revisada. (1,2)

Tabla 2. Pacientes según grupo de estudio y sexo. Ciego de Ávila. 2018.

Sexo biológico	Grupo				Total		p*
	Estudio		Control				
	No.	%	No.	%	No.	%	
Masculino	8	42,1	9	45,0	17	43,6	1,000
Femenino	11	57,9	11	55,0	22	56,4	
Total	19	100,0	20	100,0	39	100,0	

Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)

En esta tabla se muestra un ligero predominio del sexo femenino con 11 pacientes respectivamente en ambos grupos para un total de un 57%, lo cual no concuerda con la literatura revisada en la cual hay un ligero predominio del sexo masculino. (1,2)

Tabla 3. Pacientes según grupo de estudio y tipo de infarto de la cerebral media. Ciego de Ávila. 2018.

Tipo de infarto de la CM	Grupo				Total		p*
	Estudio		Control				
	No.	%	No.	%	No.	%	
Lenticuloestriado	10	52,6	11	55,0	21	53,8	0,305
Superior	6	31,6	9	45,0	15	38,5	
Inferior	2	10,5	0	0,0	2	5,1	
Troncular	1	5,3	0	0,0	1	2,6	
Total	19	100,0	20	100,0	39	100,0	

Chi-cuadrado de Pearson

Como podemos ver en este análisis estadístico el tipo de infarto que predominó fue el lenticuloestriado con un 52% y 55% del total en ambos grupos seguido por el de rama superior no encontrándose estudios en nuestra población con el cual compararlo.

Tabla 4. Pacientes según grupo de estudio y comorbilidades metabólicas. Ciego de Ávila. 2018.

Comorbilidades metabólicas	Grupo				Total		p*
	Estudio		Control				
	No.	%	No.	%	No.	%	
Hiperlipidemia	2	10,5	2	10,0	4	10,3	1,000
DM-II	6	31,6	5	25,0	11	28,2	0,920

Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)

Aquí se muestra la incidencia de las comorbilidades metabólicas no se presentaron con mayor incidencia con respecto a las no metabólicas siendo la

diabetes mellitus tipo 2 la más frecuente de este grupo seguida de la hiperlipidemia lo cual concuerda con la literatura revisada. (1,2)

Tabla 5. Pacientes según grupo de estudio y comorbilidades no metabólicas. Ciego de Ávila. 2018.

Comorbilidades metabólicas	no	Grupo				Total		p*
		Estudio		Control		No.	%	
		No.	%	No.	%			
HTA		16	84,2	12	60,0	28	71,8	0,186
Fibrilación auricular		0	0,0	2	10,0	2	5,1	0,491
Cardiopatía isquémica		0	0,0	1	5,0	1	2,6	1,000
Insuficiencia arterial		1	5,3	0	0,0	1	2,6	0,979

Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)

En este estudio se muestra las comorbilidades no metabólicas en el cual la hipertensión arterial esencial tiene la mayor incidencia con un 84% del total de pacientes lo cual se comporta de igual forma que en la literatura estudiada. (1,2)

Tabla 6. Pacientes según grupo de estudio y tabaquismo. Ciego de Ávila. 2018.

Tabaquismo	Grupo				Total		p*
	Estudio		Control		No.	%	
	No.	%	No.	%			
Sí	9	47,4	11	55,0	20	51,3	0,876
No	10	52,6	9	45,0	19	48,7	
Total	19	100,0	20	100,0	39	100,0	

Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)

El tabaquismo mostro en este estudio ser un importante factor de riesgo para la enfermedad cerebro vascular el cual represento un 47% y 55% en el grupo estudio y control respectivamente. (1,2)

Tabla 7. Pacientes según grupo de estudio y porciento de células mononucleares. Ciego de Ávila. 2018.

Porciento de CMN	N	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	*p
% CMN inicial	19	19,7	9,5	7	37	0,027
% de CMN al 3er día	19	19,7	6,8	10	36	
% CMN al 7mo día	19	27,6	11,6	6	50	
% CMN al 10mo día	19	20,4	12,4	9	60	

*Prueba de Friedman

El presente grafico muestra el porciento de células mono nucleadas durante el transcurso del tratamiento mostrando los mayores conteos de estas en el séptimo día del tratamiento local muestra un comportamiento similar a lo que describe la literatura donde ocurre un aumento de la células mono nucleadas a partir de las primeras 6 horas de tratamiento con un pico a los 5 días. (23, 24,25)

Tabla 8. Pacientes según grupo de estudio según la National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS). Ciego de Ávila. 2018.

Grupo	Estudio		Control		*p
	Media	Desv. típ.	Media	Desv. típ.	
Escala NIHSS					
1er día	10,4	4,2	9,6	3,6	0,631
7mo día	5,9	3,4	10,1	5,1	0,011
30 días	4,0	3,4	7,2	4,6	0,038
90 días	3,0	3,5	5,0	4,3	0,106
180 días	2,8	3,3	3,1	3,3	0,530

Prueba de Friedman

0,000

0,000

*U de Mann-Whitney

El comportamiento de la presente tabla mostro una reducción del puntaje según la escala NIHSS el cual fue más significativo en el grupo estudio en los días siete y treinta días en los cuales los valores estadísticos son significativos ($p \leq 0,05$), mostrando así una ligera diferencia con la literatura analizada. (25)

Tabla 9. Pacientes según grupo de estudio y escala Rankin. Ciego de Ávila. 2018.

Grupo	Estudio		Control		*p
	Media	Desv. típ.	Media	Desv. típ.	
1er día	3,7	0,7	3,7	0,9	0,878
7mo día	3,0	1,1	3,6	0,9	0,065
30 días	2,4	1,3	3,1	1,1	0,083
90 días	2,2	1,2	2,7	1,1	0,203
180 días	2,0	1,2	2,3	1,1	0,368

Prueba de Friedman 0,000 0,000

*U de Mann-Whitney

En esta se muestra el comportamiento de ambos grupos según la escala de Rankin donde la media se mantuvo de forma similar algo que concuerda con los estudios revisado. (25)

Tabla 10. Pacientes según grupo de estudio y escala Barthel. Ciego de Ávila. 2018.

Grupo	Estudio		Control		*p
	Media	Desv. típ.	Media	Desv. típ.	
1er día	30,5	15,7	29,0	13,9	0,784
7mo día	58,2	20,2	32,0	18,9	0,001
30 días	74,1	20,2	51,8	26,3	0,005
90 días	80,0	23,9	66,8	23,7	0,083
180 días	86,3	21,8	78,8	21,0	0,298
Prueba de Friedman	0,000		0,000		

*U de Mann-Whitney

En la presente gráfica se muestran el progreso clínico de los dos grupos donde en los días séptimo y treinta se detecta una discreta mejoría del grupo estudio con respecto al control el resto del tiempo se comportó de manera similar a semejanza de lo revisado en las publicaciones. (25,26)

Tabla 11. Pacientes según grupo de estudio e infección intrahospitalaria. Ciego de Ávila. 2018.

Infección intrahospitalaria	Grupo				Total		p*
	Estudio		Control		No.	%	
	No.	%	No.	%			
Presente	4	21,1	5	25,0	9	23,1	1,000
Ausente	15	78,9	15	75,0	30	76,9	
Total	19	100,0	20	100,0	39	100,0	

Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)

Las infecciones intra hospitalarias tuvieron similar comportamiento en los dos grupos con un 21% y 23% del total no teniéndose datos estadísticos con cual compararlo.

DISCUSIÓN

En la primera tabla se distribuyeron los pacientes con ictus según grupo de estudio y edad mostrando una media de edad en ambos grupos entre 69 y 68 años, lo cual es muy similar a lo descrito en la literatura revisada (1,2). En este estudio se muestra un ligero predominio del sexo femenino con 11 pacientes respectivamente en ambos grupos para un total de un 57%, lo cual no concuerda con la literatura revisada en la cual hay un ligero predominio del sexo masculino. (1,2) En este análisis estadístico el tipo de infarto que predominó fue el lenticuloestriado con un 52% y 55% del total en ambos grupos seguido por el de rama superior los cuales son uno de los más frecuentes descrito en la literatura. (1,2)

Se muestra en este estudio la incidencia de las comorbilidades metabólicas las cuales no se presentaron con mayor incidencia con respecto a las no metabólicas siendo la diabetes mellitus tipo 2 la más frecuente de este grupo seguida de la hiperlipidemia siendo la hipertensión arterial esencial la más frecuente dentro del grupo de las no metabólicas con un 84% del total de pacientes lo cual se comportó de igual forma que en la literatura estudiada (1,2), el tabaquismo mostró en este estudio ser un importante factor de riesgo para la enfermedad cerebrovascular el cual representó un 47% y 55% en el grupo estudio y control respectivamente teniendo similar comportamiento en la literatura revisada.(1,2)

Los análisis hechos muestran el porcentaje de células mono nucleadas durante el transcurso del tratamiento donde los mayores conteos de estas están el séptimo

día del tratamiento local muestra un comportamiento similar a lo que describe la literatura donde ocurre un aumento de la células mono nucleadas a partir de las primeras 6 horas de tratamiento con un pico a los 5 días y una tendencia a la normalización a partir del décimo día(23,24,25), huelga destacar la tendencia de estos pacientes a presentar cifras relativamente altas de células mononucleadas lo cual puede estar en relación con lo que plantean algunos estudios los cuales plantean que una variedad de células madre / progenitoras se movilizan desde la médula ósea a la sangre periférica en una variedad de trastornos, incluido el accidente cerebrovascular isquémico y que el hábito de Fumar y la ingesta de alcohol afectan significativamente su perfil temporal. (26)

La escala NIHSS mostro una discreta reducción del puntaje el cual fue más significativo en el grupo estudio en los días siete y treinta en los cuales los valores estadísticos son significativos ($p \leq 0,05$), según la escala de Rankin la media se mantuvo de forma similar en los dos grupos respectivamente, los Pacientes según la escala de Barthel mostraron discreta mejoría del grupo estudio con respecto al control en el séptimo y trigésimo día de tratamiento el resto del tiempo se comportó de manera similar para los dos grupo ,estos resultados son muy similares a los obtenidos en un ensayo prospectivo, de un solo centro, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, fase IIb de G-CSF en pacientes con accidente cerebrovascular subagudo donde No hubo diferencia significativa entre los grupos de tratamiento y placebo con respecto a las mediciones de la dependencia (puntuación de Rankin modificada), la discapacidad (*Barthel Index* y

Nottingham Extended Activities of Daily Living), deterioro (Institutos Nacionales de Salud Stroke Scale, Motoricity Index y fuerza de agarre) , Cognición (*Mini-Mental State Examination*), o estado de ánimo (puntuación de la depresión de Zung, Tabla 2),(25).

Sin embargo, se han realizado varios estudios clínicos con G-CSF como el efectuado en un grupo de 10 pacientes con infarto cerebral agudo mediante inyecciones subcutáneas de G-CSF (15 µg / kg por día) durante 5 días en el cual hubo una mejoría mayor en la función neurológica en el grupo de G-CSF que en el grupo de control. (26)

Las infecciones intra hospitalaria tuvieron similar comportamiento en los dos grupos con un 21% y 23% del total y no se presentaron complicaciones graves, neurológicas o no neurológica tras la terapéutica salvo náuseas y dolor lumbar lo cual avala lo planteado en diversos ensayos tanto en ratones como en humanos.

CONCLUSIONES

En conclusiones, este estudio longitudinal, prospectivo y aleatorizado donde se administró el factor estimulante de las colonias de Granulocitos mostró:

- Ser un medicamento seguro al tener pocos efectos adversos menores y ninguno mayores tanto sistémicos como neurológicos.
- Cierta beneficio en los pacientes tratados durante los séptimo y trigésimo día según las escalas de evaluación (NIHSS Barthel), no así en la escala de Rankin modificada donde mantuvo un comportamiento similar durante toda la terapéutica en ambos grupos
- El ascenso del porcentaje de células mononucleadas durante el transcurso del tratamiento, donde los mayores conteos de estas son al séptimo día con un descenso al décimo y una tendencia de los pacientes a presentar conteos relativamente mayores en las primeras horas de células mononucleadas.

RECOMENDACIONES

Debido a los escasos estudios publicados sobre este tema se recomienda ampliar el número de estos donde se pueda demostrar con métodos científicos más rigurosos y concluyentes, como los marcadores de la migración celular al área de infarto y su supervivencia, así como el ensayo de una terapéutica combinada con otros fármacos que promuevan la Angiogénesis la proliferación de células madres en la zona de penumbra así como la reducción de la inflamación y la apoptosis neuronal producida por la cascada de eventos bioquímicos tras el infarto teniendo así un concepto más amplio de la neuro protección la cual no se limita a un solo mecanismo fisiopatológico cuestión que se ha mencionado en este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biller J, Love BB, Schneck MJ. Vascular Diseases of the Nervous System Ischemic, Cerebrovascular Disease. In: Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, Mazziotta JC, editors. Bradley's Neurology in Clinical Practice. Volume III: Neurological Diseases. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2012. p. 1003-1053.
2. Ministerio de Salud Pública (Cuba). Anuario Estadístico de Salud 2017 [Internet]. La Habana: Dirección de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2018 [citado 18 Sep 2018]. Disponible en: <http://files.sld.cu/dne/files/2018/04/Anuario-Electronico-esp%C3%B1ol-2017-ed-2018.pdf>
3. Ropper AH, Samuels MA, Klein JP. Cerebrovascular Diseases. In: Adams and Victor's Principles of Neurology. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2010. p. 778-884.
4. García-Verdugo JM. Identificación de células madre en el cerebro adulto humano. Rev Neurol [Internet]. 2007 [citado 12 feb 2017];44(Supl.3): S11. Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.44S03.2007222>
5. Azad TD, Veeravagu A, Steinberg GK. Neurorestoration after stroke. Neurosurg Focus [Internet]. 2016[citado 12 feb 2017];40(5):E2. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3171%2F2016.2.FOCUS15637>
6. Isla-Guerrero A, Budke M, Cacicedo-Egües L, García-Grande A, Vázquez-Rodríguez I, de Miguel-Campo E, et al. Efecto protector de la hormona de crecimiento en cultivos de células del sistema nervioso central. Rev Neurol

- [Internet]. 2002 [citado 12 feb 2017];34(03):208-211.
Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.3403.2001277>
7. England TJ, Abaei M, Auer DP, Lowe J, Jones DRE, Sare G, et al. Granulocyte-Colony Stimulating Factor for Mobilizing Bone Marrow Stem Cells in Subacute Stroke [Internet]. 2012 [citado 12 jul 2018];43(2):405-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.636449>
8. Navarro M, Rosell A, Hernández-Guillamón M, Cuadrado E, Montaner J. Potencial terapéutico de las células progenitoras endoteliales en el ictus isquémico. Rev Neurol [Internet]. 2007 [citado 4 feb 2018];45 (09):556-562. Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.4509.2007475>
9. Azad TD, Veeravagu A, Steinberg GK. Neurorestoration after stroke. Neurosurg Focus [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];40(5):E2. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3171%2F2016.2.FOCUS15637>
10. Liska MG, Crowley MG, Nguyen H, Borlongan CV. Biobridge concept in stem cell therapy for ischemic stroke. J Neurosurg Sci [Internet]. 2017 [citado 4 feb 2018];61(2):173-9. Disponible en: <https://doi.org/10.23736/S0390-5616.16.03791-7>
11. Chen L, Zhang G, Khan AA, Guo X, Gu Y. Clinical Efficacy and Meta-Analysis of Stem Cell Therapies for Patients with Brain Ischemia. Stem Cells Int [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];2016:6129579. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1155%2F2016%2F6129579>

12. Borlongan CV. Preliminary Reports of Stereotaxic Stem Cell Transplants in Chronic Stroke Patients. *Mol Ther* [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];24(10):1710-1. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/mt.2016.186>
13. Chen K-H, Chen C-H, Wallace CG, Yuen C-M, Kao G-S, Chen Y-L, et al. Intravenous administration of xenogenic adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSC) and ADMSC-derived exosomes markedly reduced brain infarct volume and preserved neurological function in rat after acute ischemic stroke. *Oncotarget* [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];7(46):74537-74556. Disponible en: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12902>
14. Li G, Yu F, Lei T, Gao H, Li P, Sun Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell therapy in ischemic stroke: mechanisms of action and treatment optimization strategies. *Neural Regen Res* [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];11(6):1015-24. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4103%2F1673-5374.184506>
15. Nakazaki M, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Oka S, Namioka T, Namioka A, et al. Intravenous infusion of mesenchymal stem cells inhibits intracranial hemorrhage after recombinant tissue plasminogen activator therapy for transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Journal of Neurosurgery JNS* [Internet]. 2017 [citado 4 feb 2018];127(4):917-926. Disponible en: <https://doi.org/10.3171/2016.8.JNS16240>

16. Mays R, Deans R. Adult adherent cell therapy for ischemic stroke: clinical results and development experience using MultiStem. *Transfusion* [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];56:6-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/trf.13562>
17. Muir KW. Clinical trial design for stem cell therapies in stroke: What have we learned? *Neurochem Int.* [Internet]. 2017 [citado 4 feb 2018];106:108-113. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.09.011>
18. Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, Lunsford LD, Coburn ML, Billigen JB, et al. Clinical Outcomes of Transplanted Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Stroke. *Stroke* [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];47(7):1817-24. Disponible en: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.0129>
19. Unsworth DJ, Mathias JL, Dorstyn DS. Cell therapies administered in the chronic phase after stroke: a meta-analysis examining safety and efficacy. *Reg Med* [Internet]. 2017 [citado 4 feb 2018];12(1):91-108. Disponible en: <https://doi.org/10.2217/rme-2016-0082>
20. Nakamura M, Samii A, Lang JM, Götz F, Samii M, Krauss JK. De Novo Arteriovenous Malformation Growth Secondary to Implantation of Genetically Modified Allogeneic Mesenchymal Stem Cells in the Brain. *Neurosurgery* [Internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];78(4):596-600. Disponible en: <https://doi.org/10.1227/NEU.0000000000001025>

21. Kumar A, Prasad M, Jali VP, Pandit AK, Misra S, Kumar P and et al. Bone marrow mononuclear cell therapy in ischaemic stroke: a systematic review. *Acta Neurol Scand* [internet]. 2016 [citado 4 feb 2018]; Encontrado en :<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ane.12666/full>
22. Sandu RE, Balseanu AT, Bogdan C, Slevin M, Petcu E, Popa-Wagner A. Stem cell therapies in preclinical models of stroke. Is the aged brain microenvironment refractory to cell therapy? *Exp Gerontol* [internet]. 2017 [citado 4 feb 2018];94:73-77. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.01.008>

bibliografia

Broxmeyer HE, Orschell CM, Clapp DW, Hangoc G, Cooper S, Plett PA, et al. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. J Exp Med [internet]. 2005 [citado 4 feb 2018];201(8):1307-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1084/jem.20041385>

Shin JW, Lee JK, Lee JE, Min WK, Schuchman EH, Jin HK, et al. Combined effects of hematopoietic progenitor cell mobilization from bone marrow by granulocyte colony stimulating factor and AMD3100 and chemotaxis into the brain using stromal cell-derived factor-1 α in an Alzheimer's disease mouse model. Stem Cells [internet]. 2011 [citado 4 feb 2018];29(7):1075-89. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/stem.659>

England TJ, Abaei M, Auer DP, Lowe J, Jones DR, Sare G, et al. Granulocyte-colony stimulating factor for mobilizing bone marrow stem cells in subacute stroke: the stem cell trial of recovery enhancement after stroke 2 randomized controlled trial. Stroke [internet]. 2012 [citado 4 feb 2018];43(2):405-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.636449>

Hori E, Hayakawa Y, Hayashi T, Hori S, Okamoto S, Shibata T, et al. Mobilization of Pluripotent Multilineage-Differentiating Stress-Enduring Cells in Ischemic Stroke. J Stroke Cerebrovasc Dis [internet]. 2016 [citado 4 feb 2018];25(6):1473-81. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.12.033>

Ratajczak J, Zuba-Surma E, Paczkowska E, Kucia M, Nowacki P, Ratajczak MZ. Stem cells for neural regeneration—a potential application of very small embryonic-like stem cells. *J Physiol Pharmacol* [internet]. 2011 [citado 4 feb 2018];62(1):3–12. Disponible en: <https://europepmc.org/abstract/med/21451204>

Piao CS, Gonzalez-Toledo ME, Gu X, Zhao LR. The combination of stem cell factor and granulocyte-colony stimulating factor for chronic stroke treatment in aged animals. *Exp Transl Stroke Med* [internet]. 2012 [citado 4 feb 2018];4(1): [aprox. 15 pantallas]. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1186%2F2040-7378-4-25>

Cho DY, Jeun SS. Combination therapy of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and minocycline improves neuronal function in a rat middle cerebral artery occlusion model. *Stem Cell Res Ther* [internet]. 2018 [citado 4 feb 2018];9(1):[aprox. 20 pantallas]. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1186%2Fs13287-018-1011-1>

Paganessi LA, Walker AL, Tan LL, Holmes I, Rich E, Fung HC, et al. Effective mobilization of hematopoietic progenitor cells in G-CSF mobilization defective CD26^{-/-} mice through AMD3100-induced disruption of the CXCL12-CXCR4 axis. *Exp Hematol* [internet]. 2011 [citado 4 feb 2018];39(3):384–390. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.exphem.2010.12.003>

Wu KJ, Yu SJ, Shia KS, Wu CH, Song JS, Kuan HH, et al. A Novel CXCR4 Antagonist CX549 Induces Neuroprotection in Stroke Brain. *Cell Transplant* [internet]. 2017 [citado 4 feb 2018];26(4):571-583. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3727%2F096368916X693563>

ANEXOS

Anexo 1: Evaluación del Protocolo de Atención al Ictus Isquémico

Medidas a cumplir:

1. Realización de TAC al ingreso para diferenciar entre ictus isquémico o hemorrágico.
2. Permeabilidad de la vía aérea y control adecuado de secreciones.
3. Administración de oxígeno solo en aquellos casos en que la SpO₂ sea menor de 95%.
4. Hidratación con solución salina isotónica en cantidad de alrededor de 30-35ml/Kg en 24 horas excepto si contraindicaciones.
5. No administración de soluciones con dextrosa a menos que haya hipoglicemia comprobada.
6. No canalización de vena periférica en miembro parético.
7. Control adecuado de la TA: Tratamiento si TA superior a 220/120 mmHg o TAM mayor de 130 mmHg.
8. Uso adecuado de antihipertensivos: Labetalol, IECA, NTP en caso de emergencia HTA. No uso de nifedipina (SL).
9. Control adecuado de la glicemia manteniendo cifras entre 7-11 mmol/l con uso de insulina simple para este control.
10. Mantener temperatura corporal por debajo de 37,5° con uso de dipirona y medidas físicas para su control.
11. Empleo de antiagregación plaquetaria con aspirina 125mg/día.

12. Anticoagulación con heparina sódica o de bajo peso a dosis convencionales. No empleo de warfarina en las primeras 48-72 horas por peligro de conversión hemorrágica.
13. Uso adecuado de manitol: por no más de 5 días, solo en casos de deterioro y/o signos de HTE
14. Rehabilitación neurológica al segundo día si no hay contraindicaciones.
15. Test de deglución al segundo día de evolución.
16. Control de la agitación con uso de haloperidol a las dosis recomendadas.
17. Control postural y prevención de úlceras por decúbito: elevación de la cabeza 30° si no hay contraindicaciones, posición adecuada del miembro parético y cambios posturales.

Criterio para evaluación de adherencia al protocolo:

Adherencia Total:

1. Si se cumplen las 17 medidas mencionadas.
2. Si se cumplen adecuadamente las ocho medidas consideradas como imprescindibles: 1-2-4-5-7-8-11-12.

Adherencia Parcial:

1. Si se cumplen solo las medidas: 1-4-7-8-11

No Adherencia:

1. Se cumplen menos de cinco de las medidas consideradas como imprescindibles, independientemente de que se cumplan todas las demás no consideradas imprescindibles.

Anexo 2: Metodología para el conteo de leucocitos y neutrófilos.

Conteo global de leucocitos

- 1. Método:** Determinación del conteo global de leucocitos mediante la cámara contadora de células de Neubauer.
- 2. Instrumentos:** Microscópico óptico, cámara de Neubauer, pipetas milimétricas, ácido acético al 2%, y contador de células.
- 3. Tipo de muestras:** Sangre arterial, venosa y capilar que puede ser total o anticoagulada con heparina o EDTA.

Conteo diferencial de leucocitos:

- 1. Método:** Determinación del conteo diferencial de leucocitos en láminas portaobjetos.
- 2. Instrumentos:** Microscopio óptico, lámina portaobjeto, cubreobjetos, colorante de Giensa, aceite de inmersión, y contador de células.
- 3. Tipo de muestras:** Sangre arterial, venosa y capilar que puede ser total o anticoagulada con heparina o EDTA.

Conteo absoluto de neutrófilos

- 1. Método:** Determinación del conteo absoluto de neutrófilos por la siguiente fórmula: $\text{Conteo global} \times \frac{\text{neutrófilos contados}}{100}$

Anexo 3: Consentimiento para la inclusión en el proyecto de investigación “Restauración neurológica con células madres movilizadas desde la médula ósea en pacientes con accidentes vascular encefálico isquémico”.

El que suscribe: _____ :

hago constar que por este medio doy mi consentimiento para mi inclusión en este ensayo clínico después de haber recibido una explicación detallada suministrada por el Dr. _____ sobre las características y posibilidades de este tratamiento en el tipo de enfermedad que padezco.

Los accidentes vasculares encefálicos son la causa principal de discapacidad en pacientes adultos en nuestro país. Después de completada la rehabilitación habitual, el 60% de los pacientes mantiene limitaciones motoras significativas que interfieren con las actividades diarias como vestirse, caminar, cuidar de sí mismo y comunicarse.

El objetivo de este estudio, es disminuir y limitar al máximo las secuelas de la enfermedad, utilizando el factor estimulante de colonias de granulocitos FEC-G, medicamento que posee efectos neuroprotectores, y disminuye las secuelas motoras y cognitivas.

Se me ha informado que en Cuba existen más de 5 000 pacientes tratados con FEC-G para la movilización de células madres procedentes de la médula ósea, y

sólo se han comunicado reacciones adversas menores, como dolor lumbar y en el sitio de aplicación del medicamento.

Tengo conocimiento que este es un tipo de tratamiento muy prometedor para la enfermedad que padezco de acuerdo a las investigaciones y estudios clínicos realizados en Cuba y otros países

También se me ha informado que la inclusión en este estudio es totalmente voluntaria y que puedo retirarme de la investigación cuando así lo estime conveniente sin que esto traiga consigo ninguna reacción negativa contra mi persona durante el ingreso o en el futuro.

Y para que así conste y por mi libre voluntad firmo el presente documento:

Firma del paciente: _____

Firma del testigo: _____

Dado en la Ciudad de Ciego de Ávila, ____ de _____ del 201__