

## Trabajo original

# Primer caso de trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea en isquemia crítica de miembros inferiores como terapéutica consolidada

Dr. Juan M. Rodríguez-Trejo,\* Dr. Luis Padilla,\*\*\*,\*\*\*\* Biol. Pilar Hazel Carranza C.,\*\*  
Dr. Takeshi Landero,\*\* Dr. Vladimir Alba-Garduño,\* Dr. Paul Mondragón-Terán\*\*\*\*

### RESUMEN

**Introducción.** Se presenta el primer caso en México como terapéutica consolidada (fuera de protocolo de investigación) de trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea en un paciente con isquemia crítica de miembros inferiores. El 12 de noviembre 2013 se obtuvo el aval de Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) CAS/01/0R/1934/2013.

**Caso clínico.** Paciente masculino de 42 años: tabaquismo intenso, diabetes mellitus e hipertensión arterial. Inició padecimiento en 2010 con claudicación a 50 m, rápidamente progresiva hasta 5 m, úlceras isquémicas y necrosis bilateral de ortejos. En febrero 2011 miembro pélvico derecho con pulsos femoral y poplíteo 1/3, tibiales no perceptibles ITB 0.16, miembro pélvico izquierdo con pulsos femoral y poplíteo 1/3, tibiales no palpables ITB: 0.5. Angiotomografía: oclusión total de arteria iliaca derecha sin vasos de salida, miembro pélvico izquierdo con oclusión total a nivel de canal de Hunter con dos vasos de salida. El 7 de marzo 2011 se realizó angioplastia desde iliaca común derecha, femoral superficial, profunda y colocación de Stent en iliaca común. En postoperatorio con miembro pélvico derecho: ITB 0.42, miembro pélvico izquierdo: ITB 0.60 y en seguimiento por consulta con claudicación a 200 m ITB 0.5 bilateral. El 5 de septiembre 2012 con deterioro, presentando claudicación a 50 m, sin flujos arteriales, sólo venosos, sin obtener ITB. Se consideró no candidato a revascularización y se propuso autotrasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea para inducir angiogénesis o neovascularización. Proceso de separación: se obtuvieron 240 mL de aspirado de médula ósea, se dividieron en cuatro cubiletes de 60 mL, centrifugándose a 2,500 y 2,300 rpm durante 15 min, el producto final fue de 40 mL de concentrado celular (CC) ( $32 \times 10^6 \pm 7.2$  de células CD34<sup>+</sup>) y 80 mL de plasma rico en factores de crecimiento y proteínas (PRFC). Trasplante celular: el procedimiento fue bilateral y se aplicaron 32 mL de CC divididos en 16 punciones de 2 mL, en los compartimentos musculares. Como segundo tiempo se aplicaron 80 mL de PRFC cerca de cada punción de CC, y finalmente se aplicaron 8 mL, de C.C. a través de la vena safena a nivel de maléolo interno en forma retrógrada distal.

**Resultados.** Paciente con notable mejoría a los tres meses del trasplante celular, claudicación a 250 m, flujos arteriales presentes monofásicos en tibial posterior, ITB derecho 0.2 e izquierdo 0.3.

**Palabras clave:** Neovascularización, angiogénesis, trasplante celular, isquemia crítica, medicina regenerativa.

\* Servicio de Angiología, Cirugía Vascular y Endovascular, CMN 20 de Noviembre, ISSSTE.

\*\* Servicio de Cirugía Experimental, Unidad de Microcirugía, CMN 20 de Noviembre, ISSSTE.

\*\*\* Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, UNAM.

\*\*\*\* Unidad de Medicina Regenerativa y Terapia Celular, CMN 20 de Noviembre, ISSSTE.

## ABSTRACT

**Background.** We present the first case of a bone marrow derived stem cell transplant for a patient with chronic bilateral lower limb ischemia. On November 12th, 2013 we obtained the approval of the Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) CAS/01/0R/1934/2013.

**Clinical case.** Forty-two year-old male, heavy smoker, with a history of diabetes mellitus and hypertension. The patient started with claudication at 50 meters (m), quickly progressing to 5 m, ischemic ulcers and bilateral digital necrosis. On February 2011, the patient's right limb showed femoral and popliteal 1/3 pulses, non-palpable tibial pulses, ankle brachial pressure index (ABI) of 0.16, left pelvic limb with femoral and popliteal 1/3 pulses, non-palpable tibial pulses and ABI of 0.5. Angiography. Occluded right iliac artery, left limb with total occlusion at the adductor (Hunter) canal level with two output vessels. On March 2011, angioplasty of the right iliac, superficial and deep femoral arteries was done, with stent implantation on right common iliac artery. PO. The result was a right pelvic limb with an ABI of 0.42, left pelvic limb with an ABI of 0.60 and on follow-up the patient showed claudication of 200 m. Bilateral ABI of 0.5 on September 2012 and deterioration with claudication at 50 m, with vein flow but no arterial flow. The patient was considered non-candidate to revascularization and an autologous bone marrow derived stem cell transplant was proposed as a possible therapy to induce angiogenesis and neo-vascularization. Purification process. 240 mL of bone marrow aspirate was obtained, the total volume was divided in 4 reservoirs of 60 mL. Cells were centrifuged at 2,500 and 2,300 RPM for 15 min. The total final volume of cell concentrate was 40 mL with a cell concentration of  $32 \times 10^6 \pm 7.2$  CD 34<sup>+</sup> and 80 mL of plasm rich in growth factors (PRGF). Cell transplant. A bilateral transplant procedure was performed. 32 mL of cell concentrate were transplanted, divided into 16 injections of 2 mL at the muscle compartments. 80 mL of PRGF were applied for a second time close to the site of cell concentrate transplantation. Finally, 8 mL of cell concentrate were applied through the saphenous vein at the level of internal malleolus retrograde and distally.

**Results.** The patient showed a marked improvement 3 months after the procedure, with claudication at 250 m, monophasic posterior tibial flow and ABI values for right and left limb were 0.2 and 0.3 respectively.

**Key words:** Stem cell transplant, angiogenesis, critical ischemia.

## INTRODUCCIÓN

El 30% de los pacientes con isquemia severa de miembros inferiores por oclusión arterial no son candidatos a revascularización con derivaciones arteriales y/o procedimientos endovasculares; la evolución natural de la enfermedad es hacia la progresión con dolor en reposo, úlceras, gangrena, sepsis y amputación.<sup>1</sup>

En 1997 Asahara demostró que las células endoteliales progenitoras derivadas de la médula ósea (CEPMO) promueven la angiogénesis en tejidos isquémicos.<sup>2</sup>

Tateishi-Yuyama, en 2002, utilizó por primera vez CEPMO en pacientes con isquemia severa de miembros inferiores, observando mejoría en el índice brazo-tobillo (IBT) y angiográficamente.<sup>3</sup>

Utilizando un modelo de isquemia muscular en ratas, nuestro grupo demostró que puede inducirse neovascularización o angiogénesis efectiva al transplantar CEPMO (CD34<sup>+</sup> y CD133<sup>+</sup>), derivadas de la médula ósea en túneles musculares fibrocolágenos, utilizados como andamiaje para facilitar la sobrevivencia y la diferenciación celular.<sup>4</sup> En otro estudio expe-

rimental en perros con modelo de isquemia muscular en la extremidad inferior, se corroboró que movilizando las CEPMO a la sangre periférica, aplicando el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y trasplantándolas en túneles musculares fibrocolágenos, se incrementaba significativamente la angiogénesis en comparación con el trasplante celular sin G-CSF.<sup>5</sup>

Con estos antecedentes experimentales en animales, se obtuvo la autorización de los Comités de Investigación y Ética del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre para iniciar un ensayo clínico controlado en seres humanos. Se evaluaron 20 extremidades de pacientes con isquemia severa en miembros inferiores (ISMI) (Fontaine II-b y III, Rutherford 3 y 4). Grupo 1: 10 extremidades con trasplante de CMN por vía intramuscular (IM), y grupo 2: 10 extremidades con trasplante de CMN por vía intramuscular y endovenosa retrógrada distal en la safena (IM + IV). Las células totales transplantadas fueron  $15.3 \times 10^8 \pm 5.6$  CD34<sup>+</sup>. El seguimiento promedio fue de 23 meses. En el primer grupo fue necesaria una amputación, la distancia sin dolor mejoró de 62 a 350 m, el índice brazo-tobillo (ITB)

mejoró de 0.42 a 0.68 y las unidades de perfusión por láser Doppler (UP) mejoraron de 7.14 a 225.3. En el segundo grupo hubo una amputación, la distancia mejoró de 57 a 450 m, el ITB se incrementó de 0.38 a 0.65 y las UP subieron en un rango de 6.64 a 229.2.<sup>6</sup>

Benoit, en 2013, presentó un metaanálisis sobre la seguridad y eficiencia del autotrasplante de CEP-MO en pacientes con isquemia crítica en miembros inferiores. Detalla los 45 ensayos clínicos recolectados en 10 años (2002/2012). De 1,518 pacientes, 1,272 recibieron trasplante celular y 246 se manejaron como controles, obteniendo 203 amputaciones (16%). En el mismo metaanálisis separó siete ensayos clínicos controlados, pero aleatorizados contra placebo y seguimiento por la FDA (clinical trials). De estos siete estudios sumó 365 pacientes, 195 con trasplante celular y 170 con placebo y reportó 14.4% de amputaciones con trasplante celular y 27% con placebo ( $p = 0.0019$ ) ( $OR = 0.36$ ,  $p = 0.0004$ ) y concluyó que reduce significativamente las tasas de amputación en pacientes con isquemia crítica de miembros inferiores.<sup>7</sup>

Con fecha 12 de noviembre 2013, la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) otorgó el Aval CAS/01/0R/1934/2013 al procedimiento: "Trasplante de células mononucleares progenitoras derivadas de la médula ósea para inducir angiogénesis en pacientes con isquemia severa de miembros inferiores", precisando tres condiciones:

- Que los establecimientos en donde se realice este tipo de tratamiento con células progenitoras cuenten con licencia de disposición de órganos, tejidos o células progenitoras o troncales con fines de trasplante, emitida por la autoridad sanitaria competente.
- Que un Comité Hospitalario de Bioética avale los casos.
- Que el caso se presente en sesión clínica con un grupo de especialistas que consideren los beneficios para el paciente con dicho tratamiento.

Con todos estos antecedentes, el 17 de enero 2014 se llevó a cabo el primer caso como terapéutica consolidada (no como protocolo de investigación) en el CMN 20 de Noviembre.

## CASO CLÍNICO

### Resumen clínico

Paciente masculino de 42 años de edad, ingeniero civil, tabaquismo intenso de larga evolución. Diabe-

tes mellitus e hipertensión arterial sistémica de cuatro años de diagnóstico, manejadas con metformina, glibenclamida y telmisartán, respectivamente; además, neuropatía diabética manejada con pregabalina. Inicio de padecimiento actual cuatro años previos con claudicación al deambular 50 m, progresando hasta llegar a los 5 m. Desarrolló úlceras isquémicas y zonas de necrosis con involucro de tercero y cuarto ortejos izquierdos y, posteriormente, se agregó úlcera con necrosis en primer ortejo derecho y lesiones en tercero y cuarto ortejos ipsilaterales.

En 2011 acudió por primera vez. Al examen físico se encontró extremidad inferior derecha pulso femoral y poplítico de 1/3, tibiales anterior y posterior no perceptibles con flujos de proximal a distal monofásicos a la exploración dirigida con Doppler lineal, presión de tobillo 20 mmHg derecho y 60 mmHg izquierdo con presión braquial de 120 mmHg. ITB-s izquierdo 0.5 y derecho 0.16, lesiones dérmicas y tejido necrótico localizados a nivel de ortejos, acompañado de eritema, edema, con mínima secreción fétida, con movilidad conservada, sensibilidad conservada, temperatura discretamente disminuida, de predominio en miembro pélvico derecho, llenado capilar de 4 s. Se decidió su ingreso hospitalario, además de realizar angiotomografía, donde se observó oclusión total de arteria iliaca derecha, sin vasos de salida, solamente visible la arteria femoral profunda, con datos de calcificación; miembro pélvico izquierdo con oclusión total a nivel del canal de Hunter, con posterior recanalización, observando distal dos vasos de salida, ambos con múltiples lesiones difusas sin observar arteria femoral profunda.

Al paciente se le diagnosticó enfermedad aortoiliaca tipo III más isquemia crítica, por lo que fue intervenido el 7 de marzo 2011, encontrando estenosis de arteria iliaca derecha común, externa y femoral profunda con oclusión de arteria femoral superficial y poplítica; se realizó aortografía y arteriografía de miembro pélvico derecho, angioplastia de iliaca común externa, femoral profunda y colocación de Stent a iliaca derecha.

Durante el postoperatorio presentó ITB 0.64 izquierdo e ITB 0.42 derecho. El 10 de marzo 2011 se realizó amputación de tercer ortejo bilateral ya con delimitación de lesiones y con adecuada evolución se continuó seguimiento en Consulta Externa. En cita de seguimiento con adecuada evolución, asintomático, refiriendo claudicación a los 200 m con lechos de amputación cicatrizados, lesión en punta de quinto dedo pie derecho en fase de cicatrización sin datos de infección, pulsos femorales 2/3, poplíticos no palpables, distales no palpables, ITB 0.5 bilateral.

El 5 de septiembre 2012 en seguimiento por Consulta Externa con deterioro en evolución refiriendo claudicación a los 50 m, ausencia de flujos arteriales sólo encontrando flujos venosos sin obtener ITB. Se realizó angiotomografía en la que se observó trombosis de aorta en 70%, iliaca común izquierda con trombo que disminuyó la luz del vaso en 25%, oclusión de la iliaca interna izquierda, iliaca externa con trombo que afectaba 25% del vaso, oclusión por trombo de la femoral superficial. Se valoró el caso y debido a las múltiples calcificaciones y lesiones encontradas se consideró que el paciente no era candidato a revascularización abierta por ausencia de vasos distales con el alto riesgo de amputación, así como no ser candidato a una derivación extraanatómica de tipo axilo-bifemoral por la baja permeabilidad que presentaba a tres y cinco años. Paciente joven, no aceptó los riesgos potenciales de amputación, por lo que se propuso la alternativa de autotrasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea para inducir angiogénesis, realizado el 17 de enero 2014.

En seguimiento a tres meses posteriores al evento quirúrgico el paciente se valoró por Consulta Externa, se encontró notable mejoría clínica refiriendo claudicar a 250 m. A la exploración física sin lesiones dérmicas, con adecuada temperatura en ambos miembros pélvicos y con flujos arteriales en tibiales posteriores monofásicos de buena intensidad, ITB derecho 0.2 e izquierdo 0.3, aunque bajo, estaba presente. Al momento de este reporte el paciente se encontraba en programa de caminata supervisada y sin complicaciones.

## Técnica quirúrgica

Abordaje anterior en el aspirado de la médula ósea. Bajo anestesia regional, sedación ligera y control fluoroscópico, se localizó la parte anterior superior de la cresta iliaca. Se realizó una incisión de 2 mm usando un bisturí del 11.

La trayectoria inicial del trócar de Jamshidi con mango en T fue medial en la línea del ala pélvica introduciendo éste en el hueso firmemente. Se fue redireccionando en la misma trayectoria avanzando hasta 5-7 cm; los tres agujeros de la cánula quedaron totalmente dentro del tejido esponjoso.

Se conectó una jeringa de 20 mL en la parte superior de la cánula y se hicieron pequeñas aspiraciones de 3 mL, notando la presión negativa. Tras cada pequeño aspirado de 3 mL se dio un cuarto de vuelta para aspirar otras zonas del tejido esponjoso hasta dar la vuelta entera. Se redireccionó el trócar 1 cm arriba y/o abajo en la misma trayectoria. Se continuó aspirando hasta tener el volumen suficiente (240 mL por extremidad) (*Figura 1*).

## Proceso de separación

Se utilizó el SmartPReP-2 (Bone Marrow Aspirate Concentrate System-BMAC) (HARVEST-TERUMO). Los 240 mL de médula ósea aspirados se colocaron en la bolsa con anticoagulante, se aspiraron y filtraron 60 mL que se introdujeron dentro del cubilete de BMAC a través del puerto rojo (*Figura 2A*). Al tener cuatro cubiletes de 60 mL se colocaron



**Figura 1.** Técnica quirúrgica.

dentro de la centrífuga. Se inició con 2,500 RPM, después se hizo un alto al minuto 10 y en ese momento se decantaron las cámaras en donde estaba el vial y comenzó el ciclo nuevamente a 2,300 RPM, hasta completar 15 min (*Figura 2B*). Tras el centrifugado los componentes del aspirado se separaron, quedando las células mononucleares separadas del resto (*Figura 2C*). Se introdujo la jeringa con tope

en el puerto blanco del cubilete de BMAC y se recogió el sobrenadante (*Figura 2D*). Se introdujo la jeringa sin tope en el puerto blanco, se resuspendió todo el volumen y se aspiró todo lo que quedó y se aplicó como autotrasplante celular por vía intramuscular e intravenoso retrógrado distal en la vena safena. El producto final después de centrifugar cuatro cubiletes de 60 mL (240 mL) fueron 40 mL



**Figura 2.** Proceso de separación.



**Figura 3.** Trasplante celular.

de concentrado celular (10 mL por cubilete), los 40 mL aportaron  $32 \times 10^6 \pm 7.2$  de células CD34<sup>+</sup>, los cuales se aplicaron por extremidad (*Figura 3A*).

### Trasplante celular

El procedimiento fue bilateral, se utilizó la aguja del catéter BD insyte (16GA-1.77in) (17 x 45 mm), practicando punciones en los compartimentos musculares con guía por ultrasonido. En cada pierna se inyectaron por vía intramuscular 32 mL de concentrado celular divididos en 16 aplicaciones de 2 mL, distribuidos en el músculo vasto interno, vasto externo y compartimentos musculares (tibial anterior, posterior profundo y posterior superficial) (*Figura 3B*). Como segundo tiempo quirúrgico se aplicaron 80 mL de plasma rico en factores de crecimiento y proteínas, que se sabe permanecen en forma activa durante siete días, favoreciendo la reproducción y migración celular, la aplicación fue de 5 mL intramusculares cerca de cada punción de concentrado celular (*Figura 3C*). Como tercer tiempo quirúrgico se localizó la vena safena mayor a nivel del maléolo interno, practicando una pequeña incisión disecando el vaso y refiriéndolo con catgut crómico 3-0, se ligó la vena proximalmente, y se practicó una pequeña incisión aplicando un catéter BD insyte (16GA-1.77in) (17 x 45 mm), a través del cual se heparinizó en forma retrógrada distal en el pie (1 mL, de heparina 1:1000 + 9 mL de solución salina), con aplicación de torniquete manual para evitar el retorno venoso durante 10 min, enseguida se infundieron 8 mL de concentrado celular vía venosa retrógrada distal con torniquete manual durante 10 min (*Figura 3D*).

### DISCUSIÓN

El trasplante de CEPMO para inducir angiogénesis o neovascularización en extremidades isquémicas, se consideró un procedimiento experimental de 2002 a 2009, pero con la evidencia de siete ensayos clínicos controlados contra placebo y con seguimiento de la FDA, reportados en metaanálisis por Benoit, en 2013, ahora puede considerarse como una terapéutica consolidada (OR = 0.36) ( $P = 0.0004$ ).<sup>7</sup>

En la actualidad los grupos de investigación en medicina regenerativa se encuentran estudiando técnicas y procedimientos que aumenten la sobrevivencia celular. La ingeniería de tejidos en la medicina regenerativa requiere de tres componentes biológicos; la célula, un andamiaje de soporte y factores de crecimiento y citocinas que estimulen la reproducción y migración celular. Esto justificó emplear en

este caso el plasma residual que provee el sistema SmartPReP-2 y que contiene factores de crecimiento y proteínas que permanecen en forma activa en el tejido durante siete días (se aplicaron 80 mL por extremidad).

El componente de andamiaje en la extremidad isquémica que recibe el trasplante celular, lo forma el perimiso muscular que corresponde a una membrana fibroelástica formada de elastina y colágena y que recubren los fascículos musculares. El coctel celular que prepara el sistema SmartPReP-2 aporta células progenitoras CD34<sup>+</sup>, CD133<sup>+</sup>, que se transforman en la célula endotelial que forma tubos. Y células mesenquimales CD73<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup> y CD105<sup>+</sup>, que se transforman en pericitos que rodean a la célula endotelial y permiten la maduración del vaso sanguíneo.

El mecanismo de acción de las CEPMO en la promoción de la vasculogénesis o angiogénesis puede ocurrir por dos mecanismos: incorporación directa a la vasculatura existente, facilitando el crecimiento de nuevos capilares (diapédesis, brotes, tubos) y/o efecto paracrino, secreción de citosinas y otros factores de crecimiento pro-angiogénicos que estimulan a las células endoteliales locales proliferando en la pared vascular (mitosis, vacuolas, tubos).

El sistema SmartPReP-2 purifica en forma automatizada el aspirado de médula ósea y se obtiene un concentrado celular libre de manipulación por operarios durante su procedimiento garantizando esterilidad; se lleva a cabo en la misma sala de operaciones con un centrifugado de 15 min, con poco personal, sin necesidad de transporte o almacenamiento, esto lo convierte en una técnica mínimamente invasiva, rápida y económica.

La vía intravenosa retrógrada distal, a través de la vena safena, se utiliza pensando en mejorar la llegada de las células hasta los capilares venoarteriales digitales, sin necesidad de aplicarlas por vía intraarterial, ya que el concentrado celular, aunque anticoagulado, tiene una densidad viscosa que podría comprometer más a un sistema arterial con patología oclusiva severa. Este procedimiento fue probado en su eficiencia a nivel experimental con ratas<sup>8</sup> y aplicado con éxito en pacientes con isquemia severa.<sup>6</sup>

### REFERENCIAS

1. Dormandy JP, Rutherford RB. Transatlantic interconsensus (TASC) management of peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 2000; 31: S1-S278.
2. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Van Der Zee R, Li T, Schatteman G, et al. Isolation of putative-progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-7 ler B.

3. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, et al. Therapeutic angiogenesis using cells transplantation (TACT) Study Investigators. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemic by autologous. Transplantation of bone-marrow cells: A pilot study and a randomized controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 427-35.
4. Padilla SL, Krötzsch E, Schalch P, Figueroa BS, Miranda A, Rojas E, et al. Administration of bone marrow cells into surgically induced Fibrocollagenous tunnels induces angiogenesis in ischemic rat hind limb model. *Microsurgery* 2003; 23: 568-74.
5. Padilla L, Krötzsch E, De La Garza A, Figueroa S, Rodríguez-Trejo J, Ávila G, et al. Bone marrow mononuclear cells stimulate angiogenesis when transplanted into surgically induced fibrocollagenous tunnels: Results from a canine ischemic hind limb model. *Microsurgery* 2007; 27: 91-7.
6. Padilla L, Rodríguez-Trejo J, Escotto I, De Diego J, Landerer T, Carranza P, et al. Long-term effect of autologous progenitor cell therapy to induce neo-angiogenesis in patients with critical limb ischemia transplanted via intramuscular vs. combined intramuscular and distal retrograde intra-venous. *Stem Cell Disc* 2012; 2: 155-62.
7. Benoit, O'Donnell TF, Patel AN. Safety and efficacy of autologous cell therapy in critical limb ischemia: a systematic review. *Cell Transplant* 2013; 22(3): 545-62.
8. Padilla SL, Rodríguez Trejo J, Escotto SI, De Diego J, Landerer YT, Carranza, et al. Trasplante de células mononucleares progenitoras derivadas de médula ósea por vía endovenosa retrógrada distal para inducir angiogénesis en miembros inferiores con isquemia. *Cir Gen* 2009; 31: 213-8.

Correspondencia:

Dr. Juan M. Rodríguez-Trejo  
San Lorenzo, Núm. 502  
Col. Del Valle  
C.P. 03229, México, D.F.  
Tel.: 5200-3531