



**FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

**GRADO EN MEDICINA**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

**Osteonecrosis de la cabeza femoral. Utilidad de las terapias celulares.**

**Osteonecrosis of the femoral head. Utility of cell therapies.**

**Autora: María Segovia Mateos**

**Directora: Flor Pérez Campo**

**Santander, junio de 2019.**

# ÍNDICE

GLOSARIO.....	4
OBJETIVOS Y METODOLOGÍA .....	6
RESUMEN .....	7
ABSTRACT .....	7
1. INTRODUCCIÓN .....	8
1.1 Osteonecrosis de cabeza femoral. ....	8
1.2 Epidemiología.....	10
1.3 Etiopatogenia y factores de riesgo. ....	10
1.3.1 Corticoides. ....	11
1.3.2 Alcohol. ....	13
1.3.3 Tabaquismo. ....	14
1.3.4 Alteraciones de la hemostasia. ....	15
1.3.5 Óxido nítrico.....	16
1.3.6 Lupus eritematoso sistémico.....	17
1.4 Técnicas diagnósticas y estadiaje. ....	17
1.4.1 Técnicas diagnósticas.....	17
1.4.2 Estadiaje .....	21
2. TRATAMIENTO DE LA ONCF .....	23
2.1 Terapias utilizadas hasta el momento. ....	23
2.1.1 Tratamiento conservador .....	23
2.1.1.1 Tratamiento farmacológico.....	25
2.1.1.2 Tratamientos biofísicos. ....	26
2.1.2 Tratamiento quirúrgico. ....	27
2.1.2.1 Descompresión mediante perforaciones (forage) e injerto óseo. ...	27
2.1.2.2 Osteotomía.....	29
2.1.2.3 Artroplastia .....	30
2.2 Terapia celular en la ONCF.....	32
2.2.1 Utilización de terapia celular en ONCF. ....	32
2.2.2 Método de aplicación de las MSCs.....	35
2.2.3. Aplicación de las nuevas tecnologías en la terapia celular .....	36
2.2.3.1. Scaffolds para la implantación de MSCs.....	38
2.2.3.2. Potenciamiento de la capacidad osteogénica de las MSCs. ....	39
2.2.3.4. Factores de crecimiento. ....	41
2.2.4 Resultados y seguridad de la terapia celular en ONCF. ....	41

2.2.5. Perspectivas de futuro en la terapia celular para el tratamiento de la ONCF.....	42
3. CONCLUSIONES.....	45
AGRADECIMIENTOS .....	46
BIBLIOGRAFÍA .....	47

## GLOSARIO

aCL: Anticuerpos anti-fosfolípido anti-cardiolipina

ADC: Coeficiente de difusión aparente

ADH2: Alcohol deshidrogenasa- 2

ALDH2: Aldehído deshidrogenada 2

ARCO: Association Research Circulation Osseus (Asociación por la investigación de la circulación ósea)

AL: Anticoagulante lúpico

ALP: Alkaline phosphatase (Fosfatasa alcalina)

BBC: Bone-marrow buffy coat (Pelaje de médula ósea)

bFGF: Basic fibroblast growth factor (Factor de crecimiento fibroblasto básico)

$\beta$ -TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate (Fosfato  $\beta$ -tricálcico)

BCP: Biphasic calcium phosphate (Fosfato cálcico bifásico)

BMPs: Bone marrow proteins (Proteínas morfogénicas óseas)

BMPRs: Bone marrow protein receptors (Receptores de proteínas morfogénicas óseas)

DBM: Demineralized bone matrix (Matriz ósea desmineralizada)

bNOS: Óxido nítrico sintetasa bacteriana

eNOS: Óxido nítrico sintetasa endotelial

iNOS: Óxido nítrico sintetasa inducible

IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia

IMC: Índice de masa corporal

IL: Interleucinas

hUCMSCs: Human mesenchymal stem cells (Células madre mesenquimales alogénicas del cordón umbilical humano)

G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor (Factor estimulador de colonias de granulocitos)

HGF: Hepatocyte growth factor (Factor de crecimiento de los hepatocitos)

HOTAIR:HOX transcript antisense RNA (transcriptasa antisentido HOX)

Lp(a): Lipoproteína A.

LES: Lupus eritematoso sistémico

miR: micro-RNAs

NO: Óxido Nítrico

OMS: Organización Mundial de la Salud

ON: Osteonecrosis

ONCF: Osteonecrosis de la cabeza femoral

PAI-1: Inhibidor del activador del plasminógeno-1

PPAR $\gamma$ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Receptor gamma de la proliferación de peroxisomas)

PLGA: Polylactide-co-glycolide acid (Andamios sintéticos biomiméticos de polilactida)

PLGA-CPC: Polylactide-co-glycolide acid and calcium phosphate (Ácido polilactida-Co-glicolide y fosfato cálcico)

pmscs: Peripheral blood stem cells (Células madre mesenquimales de la sangre periférica)

RM: Resonancia Magnética

SPECT: Single photon emission computed tomography (Tomografía Computarizada de emisión de fotón único)

SIS: Small intestine submucosa (Submucosa del intestino delgado)

SSCPP: Strontium-doped calcium polyphosphate (Polifosfato de calcio dopado con estroncio)

SCF: Stem cell factor (Factor de células madre)

TC: Tomografía Computarizada

TGF- $\beta$ : Transforming growth factor beta (Factor de crecimiento transformante  $\beta$ )

VEGF: (Vascular Endothelial Growth Factor) Factor de crecimiento del endotelio vascular

## OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

El objetivo principal de este trabajo es el de explicar por qué son necesarias las terapias celulares en el tratamiento de la osteonecrosis de cabeza femoral, cómo es su aplicación en la actualidad, cuáles son los aspectos a mejorar en la práctica clínica y las perspectivas de futuro en este sentido. Para ello ha sido fundamental explicar en primer lugar en qué consiste la osteonecrosis de la cabeza femoral como enfermedad, cuáles son los factores de riesgo para su aparición, que población está expuesta a desarrollarla, cómo es su diagnóstico, cuáles son los tratamientos utilizados en la práctica clínica y por qué resultan insuficientes para los pacientes afectados por ella.

Se ha realizado una revisión bibliográfica sobre los aspectos más importantes de la osteonecrosis como entidad clínica; existen multitud de estudios y revisiones publicadas en la literatura científica sobre esta enfermedad y su desarrollo, a pesar de que algunos aspectos aún no están del todo claros. Posteriormente se ha llevado a cabo una revisión sobre la terapia celular, cuáles son el tipo de células utilizadas en regeneración de tejidos y cómo se aplican en la osteonecrosis de la cabeza femoral. Por último, se han revisado las publicaciones de los últimos años tratando de explicar por qué los resultados obtenidos de la terapia celular son aún insuficientes, aunque prometedores, y algunas propuestas para perfeccionar estas técnicas.

Prácticamente todos los artículos utilizados en la realización de este trabajo están disponibles en PubMed, ya que esta base de datos científica dispone de numerosos artículos sobre los diferentes aspectos de la ONCF y la terapia celular en regeneración de tejido óseo. Se han revisado multitud de artículos y estudios que están referenciados a lo largo del texto e incluidos en el apartado de Bibliografía. También se han revisado los ensayos clínicos que están actualmente activos sobre la utilización de terapia celular en ONCF, a través de la base de datos de ensayos clínicos [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), y se han utilizado imágenes diagnósticas cedidas por el Dr. Cardín del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

## RESUMEN

A pesar de ser un tema ampliamente estudiado en la literatura científica, algunos de aspectos de la osteonecrosis no traumática de cabeza femoral, tales como la patógenesis de algunos factores de riesgo y la influencia de estos en la aparición de dicha enfermedad, continúan siendo desconocidos. En este trabajo se pretende hacer un repaso global de la osteonecrosis de cabeza femoral como entidad clínica, su epidemiología, etiopatogenia y diagnóstico, centrándonos especialmente en la terapia de esta patología. Los tratamientos utilizados hasta la actualidad, son en su mayoría agresivos e invasivos, requieren un seguimiento médico y en muchos casos una reintervención. Esto ha dado pie a la aparición de las nuevas terapias que se plantean, basadas en utilización de células y factores de crecimiento, y que ofrecen un futuro esperanzador a estos pacientes.

**Palabras clave:** osteonecrosis, cabeza femoral, terapias, células.

## ABSTRACT

Osteonecrosis of femoral head is an area highly studied by scientific literature, but some of aspects of this pathology, as are its pathogeny or the influence of risk factors, are still unknown. This research work aims to review the osteonecrosis of femoral head as a disease, its epidemiology, etiopathogenesis and diagnose, especially focusing on the therapy: most of the treatments currently used are aggressive and invasive, require a medical follow-up and, in many cases, also require a second surgical intervention. These drawbacks have given rise to the appearance of new therapies based on the use of cells and growth factors, that offer a hopeful future to these patients.

**Key words:** osteonecrosis, femoral head, treatments, cells.

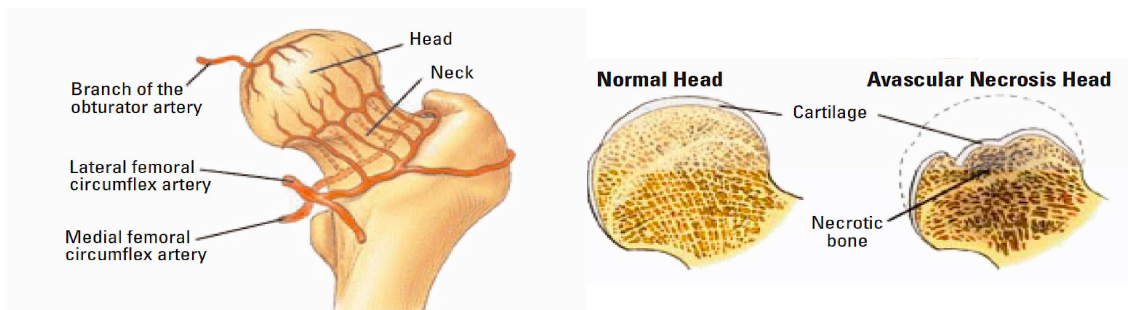
# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Osteonecrosis de cabeza femoral.

La osteonecrosis, también conocida como necrosis avascular o necrosis aséptica, es un trastorno que ha sido relacionado con múltiples procesos y afecta a personas entre la tercera y quinta década de la vida, desencadenando una grave limitación funcional del paciente, lo que condiciona su vida laboral y social en una edad plenamente productiva. La definición de osteonecrosis idiopática de la cabeza femoral (ONCF) fue consensuada en el año 1993 por el comité de ARCO (Association Research Circulation Osseus) que la define como “*la enfermedad que produce una osteonecrosis isquémica de la cabeza femoral sin antecedente de traumatismo o infección, y que progresa hacia una osteoartritis secundaria tras el colapso de la cabeza femoral*” [1].

El empleo de altas dosis de corticoides o el consumo excesivo de alcohol se relacionan con la osteonecrosis no traumática en hasta en un 70% de los casos, sin embargo, la osteonecrosis inducida por corticoides o alcohol se incluyen dentro del concepto de osteonecrosis idiopática porque su mecanismo causal aún no está definido. Existen otras causas frecuentes de osteonecrosis, secundarias al colapso y la rotura arterial en los vasos que irrigan al hueso y que están excluidas de esta entidad clínica, como la enfermedad de Perthes, la osteonecrosis secundaria a fracturas de cuello femoral, las luxaciones de cadera, la radiación o la enfermedad de Caisson.

Aunque como ya hemos apuntado, en muchos casos los mecanismos por los que se produce la ON no están totalmente aclarados, en otros puede identificarse claramente un deterioro en la vascularización del hueso (**Figura 1**) que conduce a la necrosis del tejido óseo. Se trata de un proceso progresivo que puede conducir a la fragmentación y el hundimiento de la estructura ósea y, secundariamente, a la destrucción de la articulación en un período de 3 a 5 años. En el inicio de esta enfermedad se produce un compromiso vascular en un área del hueso que provoca una anoxia (**Figura 1**), con el consiguiente infarto óseo y necrosis de dicho tejido.

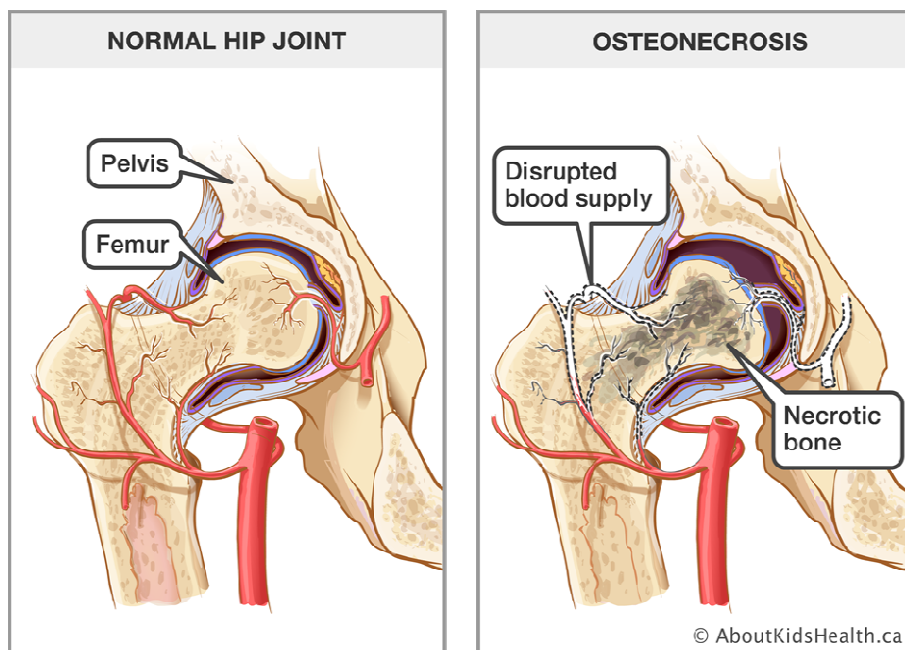


**Figura 1.-** Esquema de la vascularización arterial de la cabeza femoral, comparando la estructura ósea en un hueso sano y otro necrótico como consecuencia de una necrosis avascular. Imagen tomada de <https://nutritionreview.org/2013/04/natural-bonebuilding-synergy/femur-blood-supply/> [2].



Cuando se produce un infarto óseo en zonas de carga, este puede desencadenar un colapso de dicho segmento necrótico. Si el colapso se produce en el hueso subcondral, desencadenará también un colapso del cartílago articular, con la consiguiente alteración morfológica de la cabeza femoral, tal y como se muestra en las **Figuras 2 y 3**, produciendo a medio plazo una artrosis secundaria de la articulación afectada.

La localización más frecuente de la ONCF es la epifisaria y, aunque cualquier parte del esqueleto puede verse afectada (rodillas, hombro, astrágalo, codos, etc), la cabeza femoral es la zona esquelética más frecuente y sobre la que hay más experiencia en cuanto evolución y tratamiento; por ello, en este trabajo haremos especial referencia a esta localización.



**Figura 2.**-Necrosis ósea de la cabeza femoral como consecuencia de la isquemia, que da lugar al colapso articular y a una osteoartritis. Imagen tomada de <https://www.aboutkidshealth.ca/article?contentid=1571&language=English> [3].



**Figura 3.**-Comparación de una cabeza femoral sana y otra con colapso subcondral. Imagen tomada de <https://www.orthopaedicsone.com/display/Main/Osteonecrosis+of+the+Femoral+Head> [4].

## **1.2 Epidemiología.**

Debido a que la ON afecta con más frecuencia a individuos jóvenes, entre la tercera y la quinta décadas de la vida, sus consecuencias representan un verdadero problema sociosanitario. La osteonecrosis no traumática de cabeza femoral desencadena, en muchos casos, dolor y pérdida de función de en la articulación coxofemoral, lo que conduce a una pérdida de la funcionalidad del paciente, limitando su actividad laboral, social y recreativa en una etapa muy activa de su vida.

No se conoce todavía la incidencia ni la prevalencia real de la enfermedad, debido a que la clínica no coincide en muchos casos con el inicio de la enfermedad y a que es frecuente que curse asintómicamente y por ello se diagnostique en fase tardía. Todo esto dificulta distinguir esta patología de otros tipos de artrosis, lo que impide conocer exactamente su incidencia y prevalencia [5]. Tampoco existen registros nacionales en cuanto a la incidencia real de la enfermedad, y los datos epidemiológicos aproximados se conocen a partir de los registros nacionales de artroplastias de cadera. Se calcula que en EEUU se diagnostican entre 20.000 y 30.000 casos anuales que suponen entre el 5-18% de las artroplastias totales realizadas en este país (aproximadamente unas 500.000 al año), con un coste estimado de 1 billón de dólares (más de 680 millones de euros). Morse et al. (2007) han calculado la posibilidad de padecer una ONCF, cifrándola en 0.0026 por 100 personas y año [6].

En Asia, la osteonecrosis de cadera es el diagnóstico más frecuente entre los pacientes a los cuales se les implanta una prótesis de cadera (40-57%), tanto es así, que el Ministerio de Sanidad de Japón la incluyó dentro del programa de “enfermedades intratables” en el año 1975, promoviendo gubernamentalmente la investigación sobre esta patología.

## **1.3 Etiopatogenia y factores de riesgo.**

Hoy en día, se considera la osteonecrosis como una enfermedad ósea a la que se llega a partir de un grupo multifactorial de trastornos.

Se han postulado varias hipótesis sobre la etiopatogenia y las causas de la osteonecrosis, pero hasta hace poco tiempo no se ha esclarecido cuál era su fisiopatología inicial y los mecanismos patogénicos implicados. La ONCF se ha relacionado con el empleo de altas dosis de corticoides y con el consumo excesivo de alcohol en aproximadamente un 70% de los pacientes. Enfermedades como el lupus eritematoso sistémico, trastornos gastrointestinales, trasplantes de órganos, anemia drepanocítica, así como el hábito tabáquico, también se han asociado a un incremento del riesgo de desarrollar osteonecrosis no traumática [7].

El hecho de que no se detecte factor etiológico alguno en aproximadamente el 70% de los casos y que no se conozca el por qué determinados factores condicionan la aparición de esta entidad en unos sujetos

y en otros no, hace sospechar la existencia de una predisposición genética a padecer esta patología.

### 1.3.1 Corticoides.

Desde que comenzó a estudiarse la ONCF, muchos trabajos han reconocido este factor como el más importante para el desarrollo de esta enfermedad[8,9].

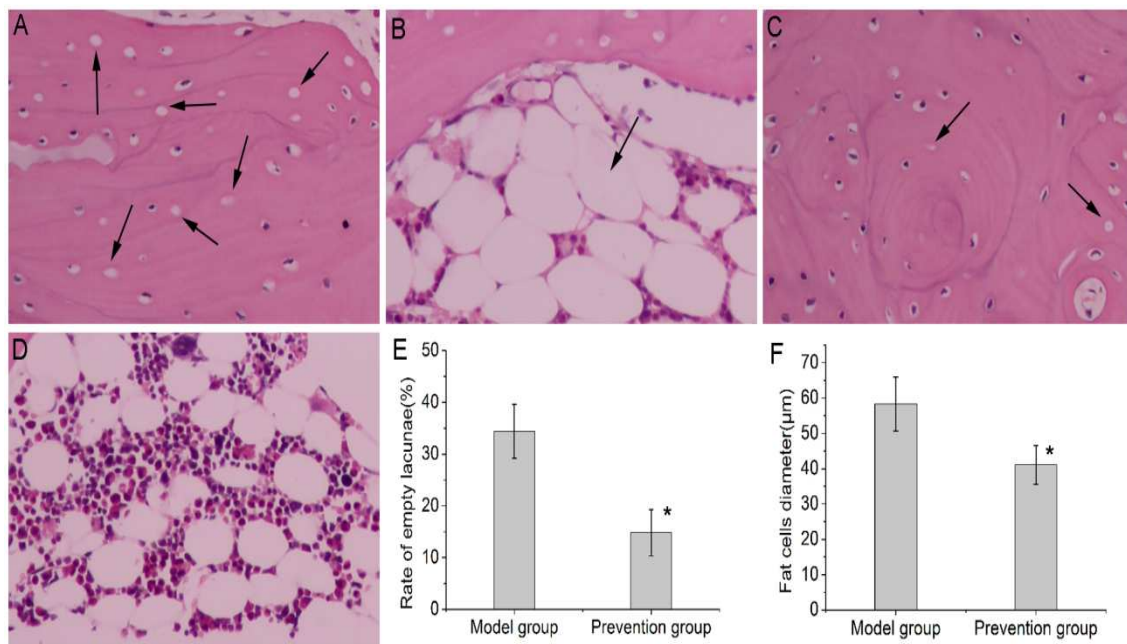
Pacientes que requieren tratamiento con corticoides durante largo tiempo pueden desarrollar una ONCF, asintomática o no, con una frecuencia que varía entre el 5% y el 52% [10,11]. En estos pacientes, el riesgo es más importante durante el primer año y tiene más relación con las dosis elevadas al inicio del tratamiento que con la dosis total acumulada [12;13]. De hecho, el mayor riesgo de aparición de una necrosis avascular se produce entre los 3,1 a 4,5 meses después del inicio del tratamiento [12]. Se han descrito también casos de ONCF tras la administración en bolo de corticoides a altas dosis de forma puntual, si bien es menos constante que con el tratamiento corticoideo prolongado [14]. No se ha establecido aún la dosis de corticoides necesaria para desarrollar la enfermedad, incluso se ha descrito la aparición de esta tras la inhalación de corticoides [15], su aplicación tópica [16] o tras una inyección intrarticular [17]. Durante los primeros 6 meses de tratamiento corticoideo, cada incremento de 10 mg/día de prednisona vía oral aumenta la posibilidad de desarrollo de ONCF en un 4,6%. Se estima que dosis acumuladas mayores de 2000 mg de metilprednisolona, 1900 mg de hidrocortisona o 13340 mg de equivalentes a hidrocortisona o un tratamiento de más de 18 días, se asocian con mayores probabilidades de desarrollar una ON en pacientes que sufren Síndrome Severo Agudo Respiratorio[18].

El mecanismo patogénico de la ONCF relacionado con el tratamiento con corticoides sigue siendo hoy en día desconocido. Las primeras teorías, en los años 70 y 80, relacionaban la toma de corticoides con un aumento de tamaño de los adipocitos a nivel de la cabeza femoral, lo que daría lugar a una compresión extrínseca de los vasos espifisarios y, por tanto, a aumentos de presión en la cabeza femoral [19;20]. Gracias a estudios morfológicos, este hecho ha sido comprobado recientemente en modelos animales [21;22]. También se ha comprobado experimentalmente en modelos porcinos que dosis altas de corticoides, disminuyen el flujo sanguíneo en la cabeza femoral, y que, en ratas, los corticoides disminuyen el flujo a nivel específico de la arteria femoral. La evidencia histológica del agrandamiento de las células grasas humanas en la osteonecrosis *in vivo* aún no se ha obtenido porque la mayoría de los trabajos previos en la histopatología se han centrado en casos avanzados después de la operación y no es posible investigar los cambios en el tamaño de las células de grasa humana después del tratamiento con esteroides *in vivo* por razones éticas[23;24]. Para observar los cambios en las células grasas *in vitro*, utilizamos un sistema de cultivo de órganos que simula las condiciones *in vivo*. En este estudio, los resultados del cultivo de adipocitos indicaron que con un tratamiento con corticoides a altas dosis la diferenciación de los adipocitos es predominante a su proliferación, y esta diferenciación conduce al agrandamiento de la célula grasa. Un agrandamiento rápido y

pronunciado conduce a un aumento de la presión ósea, y también perturba temporalmente la microcirculación en la cabeza femoral.

La relación entre osteonecrosis y anomalías del metabolismo lipídico es muy compleja. El tratamiento con corticoides a altas dosis puede causar varios efectos en el metabolismo lipídico, pudiendo concurrir algunos de estos fenómenos al mismo tiempo y estar todos ellos en relación con el desarrollo de la ONCF. Una estrategia reciente para prevenir el desarrollo de la osteonecrosis en modelos experimentales, es administrando un anticoagulante y un agente reductor de lípidos. En el futuro, será necesario investigar los efectos de la profilaxis en seres humanos [23].

Otros estudios apoyan la hipótesis de que los corticoides provocan una apoptosis inducida en osteocitos y osteoblastos, algo que se observó al comparar ONCF secundarias a corticoides con las aparecidas tras traumatismos en pacientes alcohólicos [25]. Asimismo, los corticoides se han asociado con una disminución de células madre mesenquimales en la cabeza femoral, ya que se ha detectado una menor capacidad proliferativa osteoblástica en la zona intertrocanterea comparada con pacientes que padecen coxartrosis y una disminución de la cantidad de osteocitos distales al trocánter menor comparado con caderas artrósicas [26].



**Figura 4.-**Experimento realizado en conejos en el que se estudió al inhibir el Factor inducible de hipoxia se previene la ONCF asociada a esteroides, al promover la angiogénesis y la inhibición de la apoptosis. A) Grupo modelo en que se observa osteonecrosis obvia. Los osteocitos en las trabéculas óseas muestran picnosis y lagunas vacías. B) El diámetro de los adipocitos en la médula del grupo modelo aumentó significativamente. C). En el grupo el que se inhibió el factor inducible de hipoxia, se observaron menos lagunas vacías. D). En comparación con el grupo modelo, el diámetro de las células grasas en el grupo de prevención disminuyó. E-F). El gráfico de barras muestra la tasa de lagunas vacías y el diámetro de las células grasas. Tanto la tasa de lagunas vacías como el diámetro de las células grasas en el grupo de prevención fue significativamente más bajo que en el grupo modelo ( $P < 0.05$ ). El asterisco (\*) muestra una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos. Las flechas vacías y las células adiposas agrandadas se muestran mediante flechas. Imagen tomada de Fan L et al. (Plos One 2014) [28].

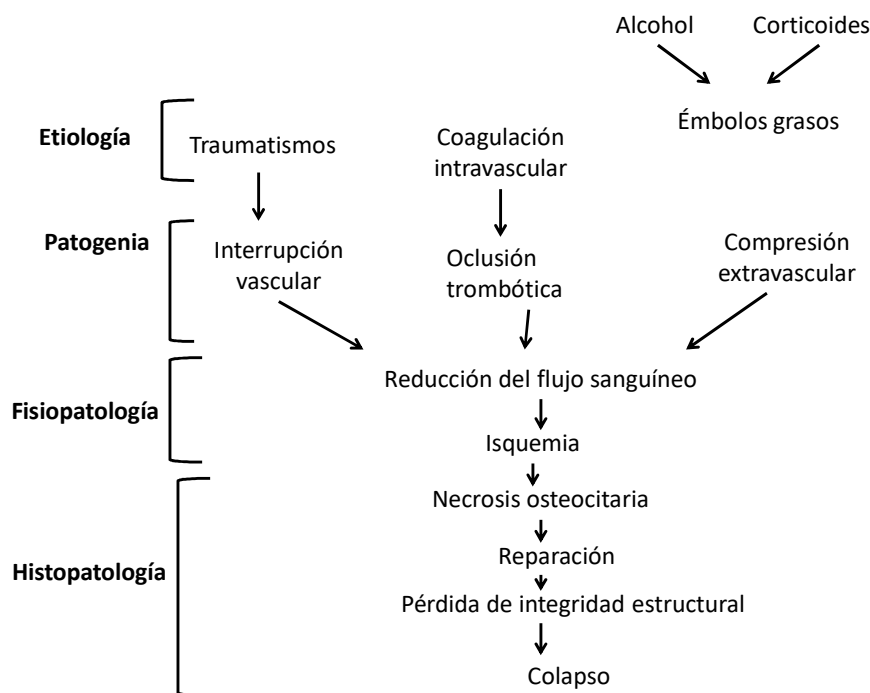
Es importante señalar que el exceso de corticoides también provoca una disfunción en el endotelio de los vasos sanguíneos, suprimiendo la producción de óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador, lo que disminuye la perfusión periférica, pudiendo ser ésta una causa del origen de la ONCF. Estudios en conejos han demostrado que la administración de corticoides produce una lesión oxidativa ósea en la diáfisis femoral previa a la aparición de la necrosis[27], lo que sugiere que con tratamientos destinados a disminuir la lesión oxidativa, disminuiría la incidencia de osteonecrosis asociada a corticoides, tal y como se muestran en la **Figura 4**.

### **1.3.2 Alcohol.**

La prevalencia de alcohólicos entre la población afecta de ONCF se sitúa en el 39% [29], estando afectados aproximadamente entre el 0,3-5% de los alcohólicos en tratamiento por su dependencia [30]. La baja incidencia entre alcohólicos con ingestas semanales similares de alcohol puede ser debida a una predisposición genética o a que la ONCF se trate de una enfermedad multifactorial. Respecto a esto último, la ingesta excesiva de alcohol se suele asociar a posibles factores comórbidos como la hiperlipidemia, la pancreatitis, el tabaco o las coagulopatías. Se ha apreciado que los pacientes alcohólicos con enfermedad hepática, presentan mayor asociación con ONCF que los que sufren pancreatitis aguda, que son en general más jóvenes y consumen más alcohol diario. Estos hechos parecen confirmar que estos pacientes constituyen una subpoblación distinta y parece probable que el desarrollo de complicaciones específicas en pacientes alcohólicos está determinada por múltiples genes, la mayoría de los cuales no se conocen.

La dosis de alcohol ingerida necesaria para catalogar como alcohólico a una persona es variable, ya que esto depende de varios factores, tales como el índice de masa corporal (IMC), el sexo, la etnia o la susceptibilidad genética. La OMS define el alcoholismo como la ingestión diaria de alcohol superior a 50 gramos en la mujer y 70 gramos en el hombre (una copa de licor o un combinado tiene aproximadamente 40 gramos de alcohol, 25 cl de vino 30 gramos y un 25 cl de cerveza 15 gramos). El consumo de alcohol semanal se calcula según el etanol contenido por cada tipo de bebida. Un paciente que ingiere entre 400-1000 ml alcohol/ semana, tiene 9.8 posibilidades más que un no bebedor de padecer una ONCF, y si dicha ingesta es mayor de 1000 ml alcohol/semana el riesgo relativo es 17.9 veces mayor [31].

Hasta la fecha se han realizado dos estudios sobre polimorfismos genéticos de las enzimas catabolizadoras del alcohol, buscando una posible predisposición genética en el subgrupo de alcohólicos que han desarrollado una ONCF. Sin embargo, ni los polimorfismos en el gen que codifica la enzima Alcohol Deshidrogenasa 2 (*ADH2*), ni aquellos localizados en el gen que codifica para la Aldehído Deshidrogenada 2 (*ALDH2*), han mostrado resultados de asociación significativos con esta patología[32].



**Figura 5.-** Esquema de la fisiopatología y los hallazgos histológicos en la ONCF como consecuencia del consumo crónico de corticoides y alcohol. Imagen adaptada de [http://www.cirugia-osteoartricular.org/adaptingsystem/intercambio/revistas/articulos/2428\\_134.pdf](http://www.cirugia-osteoartricular.org/adaptingsystem/intercambio/revistas/articulos/2428_134.pdf)[34].

Las primeras hipótesis sobre la relación entre alcoholismo y ONCF, asociaban esta patología con embolismos grasos secundarios al alcoholismo, debido a que, como ya se ha comentado, en personas alcohólicas se encontró un aumento de lípidos tanto en la cabeza femoral como en el hígado, músculos o arterias. Más tarde se asoció la osteonecrosis a la hiperlipoproteinemia secundaria al alcoholismo, por su posible evolución a arterioesclerosis, evento vascular y subsiguiente osteonecrosis, no encontrándose relación con alteraciones del ácido úrico o metabolismo glucídico. El embolismo graso intraóseo sería el desencadenante de un proceso trombótico que desencadenaría en una coagulación intravascular focal, originaria de la isquemia ósea. Por otra parte el aumento de cortisol sanguíneo tras el consumo excesivo de alcohol, sugiere también un mecanismo común a la ONCF secundaria a los corticoides [33].

### 1.3.3 Tabaquismo.

Está ampliamente descrita en la bibliografía la influencia del tabaco sobre el Inhibidor del Activador del Plasminógeno-1 (PAI-1), el Factor VIII de la coagulación, y sobre el óxido nítrico, siendo las teorías que describen la influencia del tabaco en dichas sustancias, similares a las que lo relacionan con la génesis de la arterioesclerosis y las trombosis arteriales [35]. También se ha estudiado su posible efecto en el aumento del cortisol sanguíneo, lo que puede

activar el mecanismo corticoideopara el desarrollo de la ONCF [36], o sobre la Apoproteína B (ApoB) y las Lipoproteínas de Densidad Intermedia (IDL de sus siglas en inglés) [37].

Sin embargo, la superposición del tabaquismo con otros factores de riesgo claros, como el alcoholismo o los corticoides, dificulta el estudio sobre la verdadera influencia de este hábito sobre la aparición de la ONCF, y sobre su relevancia.

En un estudio sobre 118 pacientes sin antecedentes de toma de corticoides, Hirota et al. (1993) encontraron una clara asociación entre la aparición de la enfermedad y el hábito tabáquico, siendo éste de 20 cigarrillos/día (Riesgo relativo RR=4.7) [38]. Sin embargo, no se halló una relación lineal con el consumo o con el tiempo. Por lo tanto, el tabaquismo parece tener importancia como factor inmediato más que acumulativo. Estos autores sugerían la existencia de una predisposición por parte del paciente a desarrollar la enfermedad a partir de determinado número de cigarrillos/día [38]. Unos años antes, Matsuo et al. (1988) en un estudio sobre 112 pacientes llegaron a la misma conclusión, y estimaron un riesgo relativo de 3.9, respecto a los controles sanos, de padecer la enfermedad [31]. Además, estudios previos de casos y controles demostraban una mayor prevalencia de fumadores y, dentro de estos, un mayor número de cigarrillos/días en los pacientes que sufrían la enfermedad [39]. Es importante señalar también que, en contraposición con esto, existen estudios que no encuentran ningún tipo de relación significativa con el tabaco. En estos estudios, aunque se contempla un mayor número de fumadores en la muestra, no existen datos estadísticos significativos respecto a cantidad cigarrillos/día o años de tabaquismo [40;41].

#### **1.3.4 Alteraciones de la hemostasia.**

A partir de mediados de los años 90 comienzan a aparecer en la literatura diversos trabajos que recogen una alta frecuencia de anomalías de la coagulación en pacientes con ONCF, sugiriendo que éstas podrían incrementar los fenómenos tromboembólicos en la vascularización de la epífisis proximal femoral. Jones (2000) afirmaba que la coagulación intravascular activada por diversas enfermedades subyacentes, puede ser el mecanismo sobre el que confluyen diversos factores de riesgo aparentemente no relacionados entre sí, que conducen al proceso isquémico final responsable la necrosis ósea [7].

En la osteonecrosis se produce una alteración de la coagulación en la microcirculación intraósea (capilares y venas sinusoidales), que progresa hasta desarrollar una trombosis venosa y menos comúnmente, una oclusión arterial retrógrada. La aparición de este estado de hipercoagulabilidad patológico es consecuencia de la activación anómala de la cascada de la coagulación por diversos factores de riesgo, tales como los corticoides o el alcohol, explicados previamente [42].

Al comparar los datos de las escasas series en que se recogen estos antecedentes, con la incidencia de eventos tromboembólicos en pacientes de menos de 50 años, que está estimada en 70 casos por 100.000 habitantes/año [43], se refuerza la hipótesis de que debe existir alguna patología de base

(trombofilia o alteración de la fibrinólisis) en los pacientes que desarrollan ONCF. Además de la asociación de cada uno de los factores protrombótico o hipofibrinolíticos con la ON, la conjunción de estos factores en los grupos de pacientes afectados comparados con los controles sanos, refuerza más esta relación fisiopatológica entre los factores y la enfermedad.

Las alteraciones hemostáticas que más se asocian con la ON en los diferentes trabajos son: el aumento del PAI-1, el aumento de la Lipoproteína A(Lp(a)) y la resistencia de la Proteína C activada [44]. Otras alteraciones, como la mutación G20210A del gen de la Protrombina, el Factor V de Leiden y la disminución de la concentración plasmática de las Proteínas S y C relacionadas previamente con la aparición de eventos tromboembólicos, son menos frecuentemente referenciadas por su baja prevalencia en la población. Por otra parte, estas alteraciones, al igual que ocurre con otros eventos tromboembólicos, varían mucho geográficamente. Debemos tener en cuenta que aunque son múltiples las publicaciones que describen esta asociación, también existen trabajos recientes que no encuentran relación estadísticamente significativa entre la enfermedad y las alteraciones de la coagulación, si bien hay que tener en cuenta que dichos trabajos estudian un número de pacientes significativamente menor[45;46]

### **1.3.5 Óxido nítrico**

El óxido nítrico (NO de sus siglas en inglés) fue descrito originalmente como un vasodilatador producido por el endotelio, pero más tarde se ha descubierto que juega un papel importante en muchos otros ámbitos fisiopatológicos. La isoforma de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS de sus siglas en inglés) predominante en el hueso humano, es la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS), siendo la óxido nítrico sintetasa bacteriana(bNOS) y la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) menos frecuentes. Se ha comprobado que la deficiencia de eNOS en ratones, atenúa la reactividad vascular, favorece la agregación plaquetaria, reduce la movilización de las células progenitoras endoteliales, dificulta la angiogénesis, disminuye la masa ósea y la formación de hueso [47], estando todas estas acciones posiblemente asociadas con la fisiopatología de la ONCF. Además, se ha comprobado que el nivel de eNOS en sangre, puede estar alterado por diferentes polimorfismos genéticos, asociándose éstos a enfermedades vasculares como la enfermedad coronaria, el infarto de miocardio, la hipertensión arterial, el accidente cerebrovascular y distintas enfermedades renales [48].

Existen en la literatura dos estudios que relacionan los polimorfismos de la eNOS con el desarrollo de ONCF. Kooet *al.*(2006) estudiaron 103 pacientes afectados de ONCF en Korea [48] analizando la presencia de 2 polimorfismos que cambian la expresión de eNOS y disminuyen su actividad enzimática. Estos son el polimorfismo de repetición 27-bp en el intrón 4 y el polimorfismo Glu298Asp (G894T) en el exón 7. Estos autores encontraron una asociación significativa entre el primer polimorfismo y la aparición de ONCF. Además, la sustitución de una timina por unacitosina en el nucleótido -786 del gen que codifica la eNOS, es la responsable de una reducción en la actividad enzimática y de una disminución de la producción de óxido nítrico [49]. En este estudio se tuvo en cuenta si el paciente era fumador o no, pues el tabaquismo se asocia



con reducciones del NO [50]. La frecuencia del alelo mutante de la eNOS en pacientes afectados de ONCF sin relación con el alcohol o los corticoides fue del 49%, comparado con un 17% en los controles y un 30% de los pacientes con ONCF relacionada con alcohol o corticoides. También se comprobó que el tabaquismo es un importante factor sinérgico para la aparición de ONCF asociado al polimorfismo T-786C de la eNOS [51].

### **1.3.6 Lupus eritematoso sistémico.**

La asociación entre el Lupus Eritematoso Sistémico (LES) y la necrosis vascular es conocida desde el año 1960 [52], en el que se presentaron 11 casos de ONCF en una población de 400 pacientes con LES. La incidencia de ONCF en pacientes afectados de LES varía, según los estudios, entre el 2,8% y el 40%, siendo del 14,5% en la serie prospectiva más larga [53]. Se calcula que el 10% de todos los pacientes con la enfermedad requerirán algún tratamiento quirúrgico en sus caderas [54].

Como ya se ha comentado, el factor que, con más frecuencia, se ha asociado al desarrollo de una ONCF en toda la literatura es el tratamiento con corticoides [55]. Es difícil, por lo tanto, encontrar esta asociación en los pacientes afectados de lupus, pues la mayoría están sometidos a tratamiento corticoideo.

No está clara la asociación de la presencia de los anticuerpos antifosfolípidos - anticardiolipina (aCL) y el Anticoagulante Lúpico (AL) - en pacientes con lupus y la aparición de ONCF, pues si bien existen estudios que encuentran datos que apoyarían esta asociación [56], en otros estudios no se encuentra relación alguna entre estos factores [57].

La ONCF se puede detectar tanto en pacientes con LES secundario, que están en tratamiento con corticoides, y por tanto, en relación con la toma de estos, como en pacientes con LES primario, en cuyo tratamiento no suelen estar incluidos los mismos. La incidencia de ONCF asintomática en el síndrome primario es aproximadamente de 2-20%, pudiendo incluso ser la primera manifestación [58].

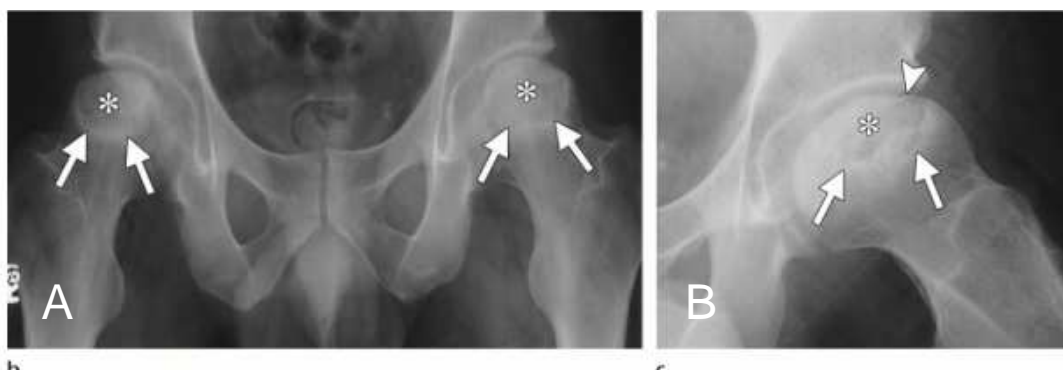
## **1.4 Técnicas diagnósticas y estadiaje.**

### **1.4.1 Técnicas diagnósticas**

La sospecha de ONCF viene orientada por la clínica. En fases precoces es inespecífica, pudiendo ser totalmente asintomática o consistir en un dolor esporádico en la región inguinal que aparece durante la marcha o en reposo, y cuyas características no son claramente mecánicas. Es habitual que exista claudicación de la marcha, y en la exploración física se objetiva limitación de la flexión y dolor con las rotaciones. Cuando aparecen estas características

clínicas en pacientes varones de edad media debemos sospechar esta patología y llevar a cabo un estudio radiológico de calidad.

La primera técnica de imagen utilizada ante la sospecha de ONCF debe ser la radiografía, ya que es el método de evaluación radiológica menos costoso y más ampliamente disponible. Si bien la radiografía no es sensible a los cambios tempranos de ON, en ciertos casos si pueden encontrarse hallazgos que pueden obviar la necesidad de una evaluación radiológica adicional. Inicialmente, la imagen típica en la radiografía simple de cadera es de áreas irregulares de claridad y esclerosis (**Figura 6A**); esta esclerosis es característica del borde de la lesión con una morfología ondulada, y corresponde a la respuesta ósea para aislar las áreas de necrosis. La radiografía también puede mostrar, de manera precoz, áreas de colapso articular en las proyecciones anterior y anterolateral de la cabeza femoral con el paciente en posición de "rana". Los cambios tempranos del colapso articular suelen ocurrir en la unión del borde esclerótico y la superficie articular, donde el estrés es máximo. La subsidencia (progresivo hundimiento de una superficie) continua puede crear una claridad en el hueso subcondral (signo de media luna) (**Figura 6B**), que representa el colapso de este hueso y la separación del cartílago suprayacente y la placa ósea subcondral adherida. Posteriormente, se suelen producir fragmentación articular, colapso articular progresivo y artrosis secundaria.



**Figura 6.-**(A) La apariencia radiográfica típica es de áreas irregulares de lucencia (asterisco) y esclerosis (flechas). El margen esclerótico que rodea las lesiones corresponde a la respuesta ósea del huésped para aislar las áreas de necrosis. (B) El proceso necrótico desarrollará un hundimiento de los huesos que crea la subconductancia de la media luna, o "signo de la media luna" (flechas), que representa el colapso del hueso subcondral. Imagen tomada de Murphey et al. (Radiographics. 2014) [59]

Puesto que la radiografía simple tiene una sensibilidad limitada para detectar los cambios tempranos de ONCF, en los últimos años se ha popularizado el uso de modalidades de imagen adicionales, incluida la medicina nuclear. En etapas tempranas de ONCF, la gammagrafía ósea y las exploraciones de médula ósea pueden revelar lesiones, observándose un aumento de radionúclido durante el proceso reparador más crónico, que suele ser periférico, con fotopenia central. La mayor actividad difusa del radionúclido está generalmente presente en la afectación epifisaria cuando existe colapso articular y artrosis secundaria. La aparición de la tomografía computarizada de emisión de fotón único (SPECT) puede mejorar la precisión de las imágenes de radionúclidos para el diagnóstico de ONCF [60]. En un estudio realizado por Ryuet *al.* (2002), se determinó que la SPECT es más sensible que la RM (100%

frente al 66%) en la detección precoz de ONCF después del trasplante renal [61].

La Tomografía Computerizada(TC)multidetectorno ha sido ampliamente estudiada en la evaluación de la ON, y no se recomienda la TC para la detección temprana de ONCF dado que esta técnica es menos sensible que la gammagrafía o la RM [62]. Las etapas posteriores de ONCF están bien estudiadas con TC y, de forma similar a la radiografía, muestran un margen esclerótico ondulado. Esta técnica es útil para detectar la ubicación y extensión del colapso articular y fue superior a la radiografía y la RM en varios estudios [63]. Esta información es particularmente importante en la planificación quirúrgica de la artroplastia [64].

La Resonancia Magnética (RM)se considera la técnica de imagen más sensible y específica para la identificación de la ONCF, con algunos estudios que le atribuyen una precisión del 97% al 100% [65;66]. Dos hallazgos característicos en la imagen de RM que aumentan el riesgo de desarrollo de ONCF son una área de hiposeñal focal causante de un falso engrosamiento corticaly una conversión temprana a médula amarilla [67].

El patrón de RM más típico visto en ONCF es un área de médula amarilla rodeada por un borde de baja intensidad de señal (esclerosis) en todas las secuencias de pulsos. Esta imagen corresponde a la patología subyacente, formación de paredes escleróticas en las áreas de necrosis. La intensidad de la señal de la médula amarilla se mantiene porque los tejidos adiposos viables y desvitalizados tienen una apariencia idéntica en RM. El borde esclerótico tiene característicamente la forma de "media luna". En las imágenes de RM el borde esclerótico (baja intensidad de señal) y la zona interna(alta intensidad de señal)durante un periodo prolongado de tiempo representan el tejido de granulación reparador: esta zona interior corresponde a la "zona de sustitución" patológica. En las fases iniciales (Estadios I y II de Ficat y Arlet) se observa un edema óseo, característico de todos los procesos inflamatorios que afectan a la médula óseo (**Figuras 6A y 6B**), hay un aumento de señal en la secuencia T2. En la fase final, la imagen es la del colapso de la cabeza femoral.

La intensidad de señal de RM en el área de osteonecrosis también puede mostrar características intrínsecas del tejido adiposo en una minoría de pacientes. Estas fueron descritos originalmente por Mitchell et al.(1987) [69], e incluyen: hemorragia (intensidad de señal alta en imágenes ponderadas en T1 y T2), áreas quísticas (intensidad de señal baja en imágenes ponderadas en T1 e intensidad de señal alta en imágenes ponderadas en T2), y tejido fibroso (intensidad de señal baja con todas las secuencias de pulsos). Inicialmente se sugirió que esta variabilidad tenía importancia pronóstica, pero se ha demostrado que esto no es así.



**Figura 7.-** (A) La imagen coronal T2-w Rm muestra un edema de la médula ósea, típico de las fases iniciales de la ONCF. (B) Coxartrosis bilateral. La cadera izquierda muestra un contorno liso y regular, con un foco extenso (31 x 17mm) de edema óseo que afecta a toda su región superomedial, y otro foco superoexterno, de menor tamaño, en relación con un proceso isquémico en la cabeza femoral. (C) Derrame articular y sinovitis. En la cadera derecha se aprecia otro foco de menor tamaño, también superomedial (12 x 8mm), en relación con el mismo proceso, en menor grado. (Imágenes cedidas por el Dr Cardín. HUMV).

El uso de imágenes de RM con contraste en adultos con ONCF no es necesario para el diagnóstico o la evaluación en la gran mayoría de los casos. Sin embargo, en estudios con animales, Nadal et al.(1992)[70] demostraron que la RM con contraste dinámico fue más sensible para detectar ONCF en una etapa temprana. Varias investigaciones han descrito el uso de realce de contraste para evaluar el riesgo de desarrollo de ONCF después de una fractura del cuello femoral [71]; los focos de ON como resultado de fracturas del cuello femoral son frecuentes y se notifican en hasta el 75% de los casos en la evaluación histológica [72]. Las imágenes de RM con una secuencia de difusión, el mapeo de T2 y el mapeo del coeficiente de difusión aparente (ADC) también se han recomendado más recientemente para evaluar el ONCF, aunque estas técnicas siguen en investigación [73].

Aunque actualmente las técnicas de imagen son la herramienta de elección para valorar y pronosticar esta enfermedad, a menudo el diagnóstico clínico resulta difícil debido a lo inespecífico de los síntomas y a que en el inicio, el estudio radiológico puede ser normal. Como se ha comentado, la RM es prueba más sensible y específica, tanto para realizar un diagnóstico precoz como para identificar signos que incrementen las posibilidades de complicación; sin embargo, la mayoría de los diagnósticos de ONCF no se realizan en fases tempranas. Por ello, actualmente existen distintas líneas de investigación para el desarrollo de nuevas técnicas que diagnostiquen la enfermedad antes incluso que la imagen; por ejemplo, la presencia de biomoléculas circulantes en plasma (microRNAs) podrían usarse como biomarcadores esqueléticos y para distinguir patrones de osteonecrosis.

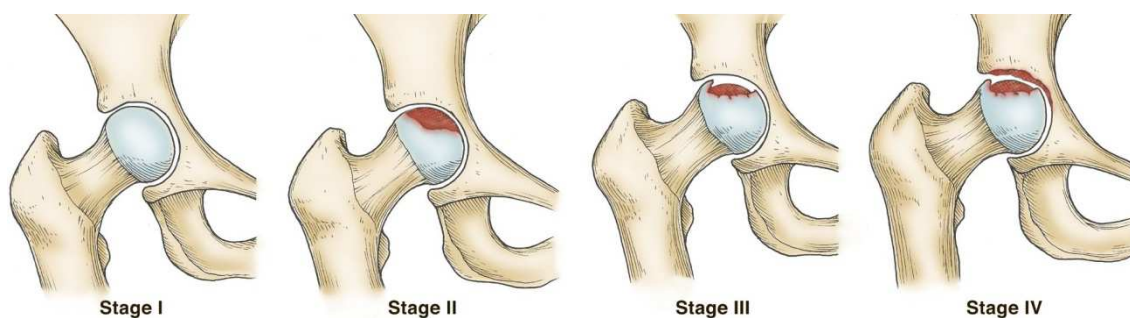
### 1.4.2 Estadiaje

Se han propuesto varias escalas de gradación de la ONCF basadas en el grado de afección radiológica, la afección histológica y los síntomas clínicos. Entre ellas destacan la clasificación de Ficat et al. (1980) [74], que se basa en los hallazgos radiológicos y ha sido extensamente utilizada (**Tabla 1 y Figura 8**), y la gradación de la Asociación de Investigación de la Circulación Ósea (ARCO) [75], que unifica los resultados de varias clasificaciones (**Tabla 2**). Sin embargo, esta última es de difícil aplicación en la práctica clínica, por lo que se utiliza principalmente en estudios de investigación.

**Tabla 1.** Clasificación de la ON según Ficat et al [74]

Estadio 0	Las técnicas de diagnóstico son normales, el paciente está asintomático
Estadio 1	La radiografía simple es normal, el paciente está asintomático o presenta síntomas leves, la gammagrafía ósea muestra una zona fría en la cabeza femoral y la biopsia es positiva
Estadio 2	Hay cambios radiológicos, síntomas leves y aumento de la captación en la gammagrafía ósea. Según el grado de afección radiológica se subclasifica en A o B
Estadio 3	Hay cambios radiológicos, con pérdida de la esfericidad y colapso, síntomas leves-moderados y aumento de la captación gammagráfica
Estadio 4	Hay cambios radiológicos, con estrechamiento del espacio articular y cambios acetabulares, síntomas moderados-graves y aumento de la captación gammagráfica

Existen dos condiciones que involucran la cabeza femoral que pueden simular la ONCF, llevando a un diagnóstico erróneo. Estas dos enfermedades son la osteoporosis transitoria de la cadera (síndrome de edema de la médula ósea) y la fractura por insuficiencia subcondral.



**Figura 8.**- Esquema gráfico de los estadios de la ONCF según la Clasificación de Ficat y Arlet. Estadio I: la biopsia es positiva pero no hay cambios visibles en las técnicas de imagen. Estadio II: Presencia de moteados en la cabeza femoral con esclerosis, sin signos de colapso de la cabeza femoral ni cambios en el acetábulo. Estadio III: cambios radiológicos, con pérdida de la esfericidad y colapso. Estadio IV: Aplanamiento de la superficie articular, estrechamiento del espacio articular y cambios radiográficos en el acetábulo. Imagen tomada de <https://orthoinfo.aaos.org/en/diseases--conditions/osteonecrosis-of-the-hip> [80].

Estos sistemas de estadificación tienen en común la progresión de la enfermedad radiológicamente hasta el colapso de la cabeza femoral y el desarrollo de osteoartritis secundaria en los estadios finales.

**Tabla 2.** Clasificación de la osteonecrosis según ARCO [75]

Estadio 0	Las técnicas de diagnóstico son normales, los pacientes suelen estar asintomáticos, el diagnóstico es histológico
Estadio 1	La radiografía simple y la TC son normales, la RM y la biopsia son positivas. Según la extensión del área afectada, se subclasifica en: A: afección < 15% B: afección 15-30% C: afección > 30%
Estadio 2	Hay cambios radiológicos, sin colapso. Según el grado de afección, se subclasifica en A, B o C
Estadio 3	Lo más característico de este estadio es “el signo de la semiluna”, que indica colapso; puede ser necesaria RM o TC para el diagnóstico. La extensión de la lesión se subclasifica en A, B o C
Estadio 4	Aparece un aplanamiento de la cabeza femoral con estrechamiento del espacio articular y signos incipientes de artrosis. El colapso ocurre habitualmente en la región de carga anterolateral o superior. La técnica que mejor objetiva el colapso es la TC. Podemos subdividir este estadio en: A: extensión del colapso < 15% y depresión 2 mm B: colapso 15-30%, depresión 2-4 mm C: colapso > 30%, depresión >4 mm
Estadio 5	Todos los cambios radiográficos citados y además hay un estrechamiento del espacio articular. Artrosis secundaria al colapso, con esclerosis, geodas y osteofitos marginales
Estadio 6	Destrucción extensa de la cabeza femoral

El volumen de la cabeza femoral involucrada en la osteonecrosis parece ser el predictor más importante del colapso articular posterior. Esto se evalúa adecuadamente con imágenes de RM: si afecta a más del 25% -50% del

volumen de la cabeza femoral, es mucho más probable que progrese al colapso articular (43% -87% de los pacientes) [76]; sin embargo, la necrosis que involucra a menos del 25%-30% de la cabeza femoral es poco probable que progrese al colapso articular (0% a 5% de los pacientes) [77].

Si bien todos los planos de RM deben evaluarse para determinar el volumen involucrado en la ON de la cabeza femoral, Ha et al.(2008)[78] enfatizaron en la importancia del plano sagital. Además de las características asociadas con el aumento del estadio y la probabilidad de colapso de la cabeza femoral, la edad del paciente (> 40 años), el aumento del volumen de derrame articular, la presencia de edema circundante prominente y un IMC por encima de la normalidad ( $\geq 24$  kg / m<sup>2</sup>), existe una característica observable en RM que puede predisponer al colapso articular: el aumento del grosor de la zona reparadora, debido a que el impacto de los tejidos blandos en esta región acentúa las fuerzas en la unión de la superficie articular del borde esclerótico [79].

## 2. TRATAMIENTO DE LA ONCF

La reparación espontánea de la ONCF es un proceso lento, discontinuo y dependiente del tiempo, que solo se da en lesiones de pequeño tamaño sin filtración concomitante del líquido articular [81]. Naw et al.(2008) sostienen que el 94% de los pacientes con ONCF asintomática desarrollarán ONCF sintomática en 5 años [82]. Se cree que la ONCF no tratada a menudo conduce a un colapso subcondral en un corto período de tiempo [83]. Varios procedimientos quirúrgicos son beneficiosos para aliviar el dolor y mejorar la funcionalidad de la cabeza femoral afectada en estadios tempranos, aunque el trauma secundario a la intervención quirúrgica puede dar lugar a un problema clínico, y dicha intervención no previene la deformidad ni el colapso subcondral [84].

Actualmente, tanto los trabajos de investigación como las intervenciones quirúrgicas se centran en: 1) mejorar la sensibilidad y exactitud del diagnóstico para que este sea lo más temprano posible; 2) mejorar la tecnología quirúrgica o desarrollar una cirugía mínimamente invasiva para evitar el trauma secundario a la intervención; 3) descubrir fármacos o tratamientos que promuevan el remodelado óseo.

### 2.1 Terapias utilizadas hasta el momento.

#### 2.1.1 Tratamiento conservador

La mayor parte de las opciones de tratamiento no quirúrgico de las fases iniciales de la ONCF conllevan una restricción del peso sobre la articulación mediante un bastón y modificaciones de la actividad. Estos métodos funcionan cuando el paciente está asintomático, pero tienen un éxito limitado en detener el progreso de la enfermedad (**Tabla 3**). La restricción de peso no está recomendada como tratamiento de rutina, sin embargo, estas terapias pueden

tener un papel para los pacientes con mucha limitación funcional o aquellos no aptos para una cirugía posterior [85].

**Tabla3.- Opciones de tratamiento: ventajas y desventajas [86].**

		<b>CRITERIOS</b>	<b>VENTAJAS</b>	<b>DESVENTAJAS</b>
<b>NO TRATADO</b>		ONCF asintomática	Reparación espontánea en casos excepcionales	Resultado deficiente. Progresión a estado sintomático
<b>CONSERVADOR</b>	Reducción de la carga	Estadio inicial ONCF (Ficat and Arlet estadio I)	Alivio del dolor	Muy limitado para frenar la progresión de la enfermedad
	Fármacos	Con mecanismo etiopatológico conocido	Es un tratamiento preventivo	Beneficios limitados
	Biofísicos	Con factores fisiológicos conocidos	Tratamiento complementario	No apropiado si hay colapso subcondral
<b>FORAGE</b>	Perforación única 8-10 mm	Estadio II Ficat and Arlet. Pacientes con dolor de intensidad media e intermitente.	Alivio del dolor. Reduce la presión intraósea. Estimula la angiogénesis y la osteogénesis.	Menor fuerza mecánica
	Múltiples perforaciones 3.2 mm.	Fase pre-colapsosubcondral.		Trauma secundario
<b>INJERTO ÓSEO</b>	Alo/auto-injerto. Cerámica. Biocristal		Alivio del dolor. Soporte estructural. Estimula la angiogénesis y osteogénesis	Infecciones. Respuesta inmune. Mayor fragilidad de los implantes. Baja tasa de degradación. Trauma secundario.
	Implantes metálicos: acero inoxidable, titanio y tantalio.			Menor adherencia al tejido. Baja tasa de degradación. Toxicidad por iones metálicos. Trauma secundario.
<b>OSTEOTOMÍA</b>	Osteotomía rotacional transtrocanterica. Osteotomía angular intertrocanterica.	Estadios II y III Ficat and Arlet. Pacientes con dolor de elevada intensidad. Menores de 45 años. No uso de corticoides durante mucho tiempo. Pequeño ángulo de necrosis	Alivio del dolor. Cambios biomecánicos en la región de la lesión. Reducción de la presión intramedular	Diferencias étnicas. Fijación débil. Retraso de la unión. Deformidad secundaria. Trauma secundario.



<b>ARTROPLASTIA</b>	Artroplastia de recubrimiento (resurfacing) limitada o al fémur	Mínimos cambios osteoartroticos. Sin afectación acetabular. Estadio III Ficat and Arlet. Pacientes con aumento del dolor o crófitos durante los cambios de posición. Ángulo necrótico >200°. Área necrótica >30%. Colapso de la cabeza femoral >2mm.	Conserva el cartilago acetabular. Conserva el material óseo.	Mayor tasa de fracaso. Fractura del cuello femoral. Dislocación de la cabeza femoral. Trauma secundario.
	Resurfacing total	Sin afectación acetabular. Estadios III-IV Ficat and Arlet. Área necrótica <35%. Integridad del cuello femoral preservada.	La mejor opción para pacientes jóvenes con estadios finales de la ONCF	Dislocación de la cabeza femoral. Trauma secundario. Dolor en la ingle. Duración limitada de los implantes
	Artroplastia total de cadera	Estadio IV Ficat and Arlet. Mala calidad de la cabeza femoral. Defecto continuo en el metabolismo mineral óseo. Afectación del cartilago acetabular.	La única opción para articulaciones de la cadera muy degeneradas.	Mayor tasa de fracaso mecánico. Duración limitada de los implantes. Dislocación de la cabeza femoral. Trauma secundario.

Otros tratamientos conservadores, como el farmacológico o los métodos biofísicos no invasivos, como la cámara hiperbárica, se aconsejan como tratamiento suplementarios. El papel del tratamiento farmacológico, bien para prevenir o para tratar, se limita a vías etiológicas específicas. En las circunstancias adecuadas, el manejo médico sería capaz de detener el desarrollo de la ONCF e inducir la curación antes del colapso [87]. Mientras tanto estas técnicas se utilizan para abordar factores fisiológicos específicos de la ONCF, pero no pueden ser recomendados como tratamiento de rutina [88].

### 2.1.1.1 Tratamiento farmacológico

Como ya se ha mencionado anteriormente, la eficacia del tratamiento farmacológico se limita a la fase previa al colpasosubcondral, por lo tanto, es esencial el diagnóstico precoz para iniciar el tratamiento en las primeras fases de la enfermedad, así como determinar el posible factor que ha provocado la necrosis para poder revertir su acción.

Se han utilizado diferentes grupos farmacológicos para el tratamiento de la ONCF, registrados en diferentes estudios. Actualmente se requieren más estudios randomizados además de un seguimiento a largo plazo para determinar cuál es su beneficio.

Uno de los grupos farmacológicos que han sido estudiados para el tratamiento de la ONCF son los agentes hipolipemiantes. El uso de estos se

basa en las cifras elevadas de lípidos detectadas en algunos pacientes y las alteraciones lipídicas que se producen en la fisiopatología de la ONCF como ya se ha comentado. Un estudio prospectivo realizado por Pritchett *et al.* (2001) demostró que la inclusión de un tratamiento con estatinas en pacientes con LES tratados con corticoides, se traducía en que solamente un 1% de los pacientes había desarrollado ONCF tras 7 años combinando ambos fármacos, un porcentaje significativamente menor que el que se observa en el resto de pacientes con lupus [89]. En el estudio de Cui *et al.* (2001) se observó que en ratos tratados con altas dosis de corticoides intramusculares el grupo al que se administró lovastatina de manera profiláctica presentaba una menor incidencia de ONCF [90]. Se ha estudiado el efecto profiláctico de otros hipolipemiantes en modelos animales tratados con corticoides, como un fitoestrógeno derivado del epidemium [91], o la pitavastatina [92], que también disminuyeron la incidencia de ONCF.

También se ha estudiado el efecto de vasodilatadores para intentar mejorar la vascularización de las zonas con necrosis. En un estudio realizado en 9 pacientes se utilizó naftidrofurilo oxalato, un vasodilatador periférico, que demostró disminuir la presión intraósea en 6 de los pacientes, sin repercusión sobre la presión sistémica [93].

Por otro lado, se han realizado estudios en animales en los que el uso de bifosfonatos, reduce el colapso subcondral [94]. Estos fármacos actúan inhibiendo la actividad de los osteoclastos, disminuyendo la reabsorción ósea y reduciendo la apoptosis de osteoblastos y osteocitos, promoviendo así la formación de hueso. En humanos, existen también estudios que demuestran que el uso de bifosfonatos en la ONCF da lugar a una mejoría clínica y un retraso en el colapso subcondral, aunque no se produce la curación de la enfermedad [95].

Por último, otros fármacos con los que se han realizado ensayos para prevenir la progresión de la ONCF, son la warfarina sódica, que ha sido usada en pacientes con trombofilia. En este ensayo el 88% de los cuales no necesitaron intervención quirúrgica a los 2 años [96]; el estanozol, un anabolizante que disminuye la cifra de Lp(a) en sangre, en pacientes con alteraciones de la Lp(a) o del PAI-1 con buenos resultados [97]; o el iloprost, un análogo de la prostaciclina, que inhibe la agregación plaquetaria y promueve la vascularización, que ha tenido buenos resultados en el tratamiento del edema óseo de cadera [98].

### **2.1.1.2 Tratamientos biofísicos.**

Existen diferentes técnicas biofísicas utilizadas en la ONCF, aunque actualmente continúan estando en fase experimental, puesto que los estudios que se han realizado no son comparables entre sí porque las muestras son heterogéneas y tienen poco tiempo de evolución.

Los pulsos electromagnéticos parecen tener un efecto sobre la osteogénesis, además de un teórico efecto protector sobre el colapso condral. Se ha comprobado, gracias a diferentes estudios, que en estadios precoces de

ONCF la utilización de estos pulsos reducen en dolor en la mitad de los casos y retrasan la progresión radiográfica [99].

Las ondas de choque tienen diferentes aplicaciones: en la pseudoartrosis, en los retardos de consolidación, en la consolidación de las fracturas y en la disminución del dolor de las entesopatías. Actualmente también se utilizan en el tratamiento de la fase inicial de la ONCF mejorando la clínica y retrasando el colapso subcondral [100;101]. En el año 2005 se llevó a cabo un estudio con ondas de choque en el que se estudiaba el efecto sobrepacientes con ONCF en fase inicial: 29 pacientes fueron tratados con ondas de choque y 28 con métodos invasivos, forage o injerto de peroné no vascularizado. Este estudio indicó que a los dos años los resultados fueron mejores en los pacientes tratados con ondas de choque [102].

También se han realizado diferentes estudios con la cámara hiperbárica de oxígeno, que actúa hiperoxigenando la zona necrótica de hueso subcondral con el fin de disminuir la zona necrótica antes de que esta se establezca definitivamente. Uno de los estudios demostró que utilizando esta técnica en estadios precoces de la ONCF el 83% de las lesiones revertían a un estado no patológico [103]. En otro estudio llevado a cabo con ratas, los resultados de este tipo de tratamiento también fueron favorables [104]. Aún así, no está claro que su eficacia sea superior a la de otros tratamientos conservadores, como se demostró en un meta-análisis de 100 artículos publicados sobre esta técnica [105].

## **2.1.2 Tratamiento quirúrgico.**

### **2.1.2.1 Descompresión mediante perforaciones (forage) e injerto óseo.**

La descompresión es el tratamiento más destacable durante la fase de pre-colapsosubcondral. En un ensayo clínico realizado por Mont et al.(2004) [106] demostró que esta técnica tiene un éxito del 70% con un seguimiento >5 años sin necesidad de otras intervenciones quirúrgicas adicionales. Esta descompresión consiste en perforar un solo agujero de 8-10 mm en la lesión necrótica que podría proporcionar alivio del dolor y reducir la presión intraósea [107]. Por otra parte, el foraje mejora el proceso de sustitución progresiva del hueso, gracias a que simula una respuesta angiogénica en los canales de perforación, restaurando o mejorando la vascularización con el fin de prevenir fenómenos isquémicos posteriores e infartos del hueso [108]. Sin embargo, los problemas derivados de una intervención quirúrgica, tales como la reconstrucción incompleta o debilitamiento del hueso trabecular en una zona adyacente a la región necrótica, continúan existiendo [109]. Otro estudio realizado por el mismo equipo anteriormente mencionado propone una técnica de multiperforación mediante agujeros de 3.2 mm de diámetro, que tiene un éxito del 80% si se realiza en la fase inicial de la ONCF, sin necesidad de reintervenciones quirúrgicas durante al menos 7 años [106].



**Paso 1.** Acceso a la lesión. Use una incisión de 2 cm para el acceso. Bajo la guía fluoroscópica (vistas AP y Lat.), Introduzca la guía de alambre estriado de 3,2 mm en la lesión. La mayoría de las lesiones son anteriores y superiores.



**Paso 2.** Introduzca el protector de tejido sobre el alambre guía y hasta el hueso antes de taladrar.



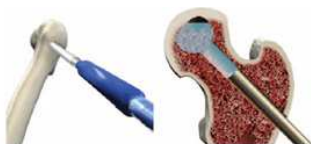
**Paso 3.** Descompresión de la cabeza femoral. Usando la broca canulada de 9 mm, descomprima la cabeza femoral perforando un núcleo a aproximadamente 5 mm de la superficie endóstica de la cabeza



**Paso 4.** Colocación de la cánula de trabajo. Mantenga la colocación del protector de tejido y retire la broca y el alambre guía. Coloque la cánula de trabajo con el obturador a través del protector de tejido y en el núcleo. Coloque la cánula de trabajo hacia arriba en el núcleo varios centímetros (debe estar ajustado). Retire el protector de tejido y obturador.



**Paso 5.** Desbridamiento del hueso necrosado. El desbridamiento estándar se puede lograr utilizando la cureta y / o el alambre guía estriado.



**Paso 6.** Aspiración del núcleo. Una vez que se haya completado el desbridamiento, use la punta de succión para extraer el tejido desbridado. El lavado con una combinación de riego y succión funciona mejor



**Paso 7.** Injerto óseo. Rellene el núcleo con el injerto inyectable para llenar completamente el defecto óseo. Comience colocando la aguja en la parte posterior del defecto e inyectando lentamente mientras saca simultáneamente la aguja. Verifique periódicamente la colocación del injerto con flúor. Retire lentamente la cánula de trabajo mientras rellena el núcleo



**Figura 9.-** Técnica para realizar forage en una cabeza femoral afectada por ON con una cánula de 9 mm.. Tras el paso 7, el último paso consiste en confirmar la colocación final del injerto bajo guía fluoroscópica y cierre de manera estándar. Imagen tomada de <http://www.wright.com/healthcare-professionals/pro-dense-graft-home/advanced-core-decompression-system>[116].

La combinación de la técnica del forage y el injerto óseo da lugar a una mejora sustancial de la ONCF, ya que estimula la formación de hueso y reduce el riesgo de fractura del fémur proximal. Este tratamiento ha sido recomendado como tratamiento de rutina en la fase de pre-colapso [110]. El injerto óseo consiste en extraer hueso cortical del ilion, tibia o peroné, o bien, hueso esponjoso del trocánter mayor o del fémur proximal, para llenar los canales de perforación, ofreciendo soporte estructural y proporcionando los andamios para la reparación. No obstante, esta técnica continua teniendo riesgo de infección bacteriana o viral y una posible respuesta inmune al injerto [111]. Los implantes de biocristal o cerámica son ampliamente utilizados en reparaciones quirúrgicas del hueso, y son capaces de formar hueso con materiales similares a la apatita o al carbonato de hidroxapatita recubriendo sus superficies, lo que supone una mejora importante en la osteointegración de dicho implante, aunque la fragilidad y la lenta degradación de estos materiales son inconvenientes para su uso [112]. El uso de implantes hechos de metal, tales como titanio, tantalio o acero inoxidable, ofrecen importante ventajas gracias a sus propiedades mecánicas y sus superficies porosas [113]. Sin embargo, estos materiales tienen una menor adherencia al tejido y una menor tasa de degradación, y en ocasiones requieren realizar una segunda intervención, o un implante permanente, lo que conlleva un riesgo de toxicidad por acumulación de iones metálicos como consecuencia de la corrosión del metal. Por otra parte, los pacientes que continúan con tratamiento con corticoides después de la descompresión tienen un peor pronóstico [114]. Recientemente, el magnesio recubierto de microarcos oxidativos y la deposición por electroforesis, han demostrado reducir la tasa de degradación del magnesio, postulándose como un buen material biodegradable para implantación y fijadores internos [115]. A pesar de que la descompresión del hueso parece ser más efectiva que el tratamiento sintomático, debe ser realizada en la fase pre-colapso, ya que no restaura la esfericidad de la cabeza femoral, ni retira los segmentos colapsados de las áreas de carga.

### **2.1.2.2 Osteotomía**

La osteotomía está especialmente recomendada para pacientes jóvenes (<45 años) [117], sin embargo, es poco utilizada, ya que los pacientes candidatos deben cumplir los siguientes criterios: 1) edad <45 años, 2) no haber estado en tratamiento con corticoides durante mucho tiempo, 3) cambios osteoartroticos mínimos, 4) pequeño ángulo necrótico y 5) que no exista afectación acetabular.

Esta técnica se utiliza para rotar los segmentos necróticos o colapsados fuera del área de carga, o para retirar los segmentos necróticos fuera del hueso y reemplazarlos por hueso sano. Este procedimiento puede cambiar el efecto biomecánico, reducir la presión intramedular y la hipertensión venosa [118]. Dentro de estos procedimientos quirúrgicos se incluyen la osteotomía rotacional transtrocanterica y la osteotomía angular intratrocanterica [119], aunque es difícil comparar ambos ya la primera se utiliza exclusivamente en países asiáticos y la segunda en países caucásicos. Es probable que la cápsula articular posterior de las personas asiáticas pacientes sea más laxa y permita una mejor rotación de la porción anterior del cuello femoral [120]. La

mala fijación con tornillos en el caso de la osteotomía angular intratrocantérica puede causar deformidades, retraso de la unión e incluso, en ocasiones, un colapso secundario de la cabeza femoral [121].

### 2.1.2.3 Artroplastia

De entre los tratamientos utilizados en la ONCF, hasta la fecha, el recambio, parcial o total de la articulación es sin duda el más utilizado, dada la poca eficacia de los métodos diagnósticos para detectar la enfermedad en una fase precoz. Sin embargo, el principal problema que presenta este abordaje es la previsible necesidad de someter a pacientes jóvenes a una artroplastia de cadera con los riesgos que ello conlleva.

En función de las características de los paciente y de lo avanzado de la lesión, se pueden distinguir tres técnicas quirúrgicas alternativas. La *artroplastia de recubrimiento (resurfacing) limitada al fémur* se utiliza en los pacientes más jóvenes, y consiste en retirar el cartílago articular del fémur, que está dañado, manteniendo el cartílago acetabular y la estructura ósea [122]. Esta técnica requiere una gran habilidad por parte del cirujano y años de entrenamiento, puesto que tiene una alta tasa de fracasos y está relacionada con fracturas del cuello femoral [123]. En un estudio realizado por Mont et al.(2001) [122] se recomienda que los pacientes candidatos a este procedimiento cumplan los siguientes criterios: 1)Estadio III Ficat and Arlet; 2)Ángulo necrótico >200° o Área necrótica >30%; 3)Colapso de la cabeza femoral >2mm; 4) Sin afectación acetabular. Sin embargo, cuando estos pacientes jóvenes tienen un estadio final de osteonecrosis se utiliza la *artroplastia de recubrimiento (reesurfacing) total de cadera* [124]. Parsons y Steele (2008) [87] postularon que los pacientes candidatos a este procedimiento deben cumplir los siguientes criterios: 1) área necrótica <35%; 2) integridad de la unión del cuello y cabeza femoral esté preservada y 3) Estadio III-IV Ficat and Arlet [125]. Este procedimiento consiste en reemplazar una porción de la cabeza femoral por un componente metálico y una porción acetabular por un componente de polietileno fijado con cemento. El uso de estos componentes para el tratamiento de caderas necróticas ha dado lugar algunos daños con respecto las lesiones vasculares en la cabeza femoral y a una menor tasa de osteointegración de los componentes de fijación [126]; además, el diseño de estos mecanismos no aborda la progresión de la patología en la superficie acetabular en el estadio posterior de la ONCF, y da lugar a complicaciones como desgaste, debilidad y dolor inguinal [127]. Sin embargo, estudios han demostrado que si se observan buenos resultados en un estadio temprano, se mantendrán durante mucho tiempo.

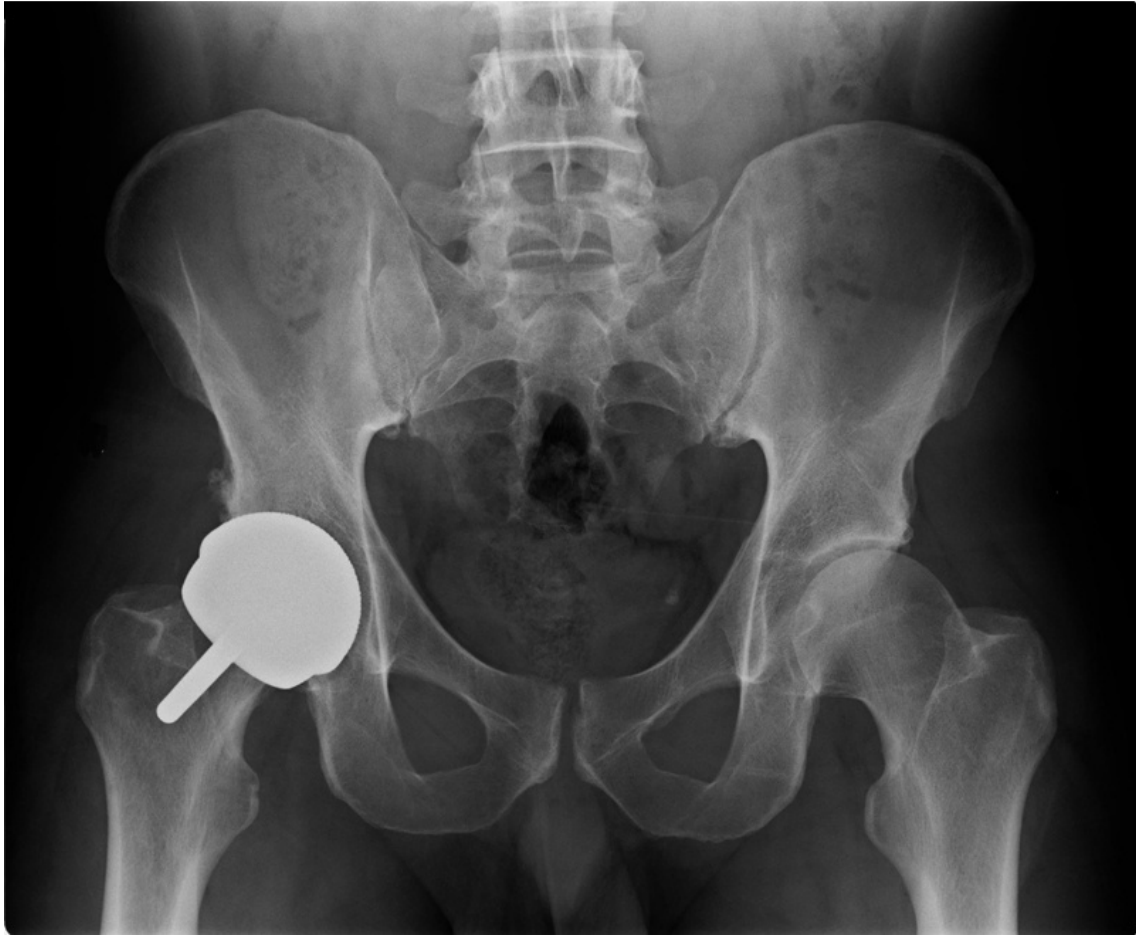


Figura 10.- Radiografía simple de cadera en proyección AP con artroplastia parcial de recubrimiento (resurfacing) derecha. Imagen tomada de <https://www.igb.es/reumatologia/cadera/artroplastia%20de%20recubrimiento.htm> [128].

Por último, una vez que la articulación de la cadera ha degenerado y está comprometida, será necesaria una *artroplastia total de cadera*. Según Mont et al. [122] y Pearson y Steele (2008) [87], los candidatos a esta cirugía deben seguir los siguientes criterios: 1) Mala calidad de la cabeza femoral; 2) Defecto continuo en el metabolismo mineral óseo y 3) afectación del cartílago acetabular. Sin embargo, existen algunos casos particulares en los que no existe un consenso sobre si utilizar o no la artroplastia total de cadera. Estos son cuando existe además anemia falciforme, LES, un trasplante post-renal, uso continuo de corticoides o el abuso de alcohol. Las principales complicaciones de la artroplastia total son la debilidad y el desgaste; además existe una mayor tasa de fallos mecánicos en pacientes mayores de 50 años [129]. Hoy en día, el uso de nuevas técnicas de cementación, o de componentes no cementados combinados con superficies de apoyo mejoradas pueden reducir estas complicaciones y aumentar la duración de los implantes [86], además de reducir el riesgo de pérdida o dislocación. En el último tiempo las superficies de apoyo "metal-on-metal" y "ceramic-on-ceramic" se han hecho populares en la práctica clínica. Aplicadas de manera adecuada, las técnicas de "resurfacing" presentan ventajas como menor tasa de dislocación y preservación de la estructura ósea, con respecto a la artroplastia total de

cadera; además, esta puede llevarse a cabo posteriormente si es necesario [126].



**Figura 11.-** Radiografía simple de cadera en proyección AP con artroplastia total. Imagen tomada de <http://isanidad.com/51679/los-pacientes-con-reemplazo-total-de-cadera-tienen-mejores-sensaciones-que-los-de-rodilla-o-tobillo/> [130].

## 2.2 Terapia celular en la ONCF

Hasta la actualidad, los tratamientos utilizados en la ONCF han sido en su mayoría quirúrgicos, y casi sin excepción, los pacientes sometidos a este tipo de tratamientos, acaban por requerir una artroplastia, lo que supone asumir los riesgos que conlleva una cirugía, un posterior recambio de prótesis, si así lo requiere la edad del paciente, costes sanitarios, etc. Tal y como hemos comentado, y teniendo en cuenta el perfil de estos pacientes, es evidente que la mejor opción para los pacientes con ONCF sería frenar la degeneración ósea a través de tratamientos regeneradores del tejido óseo, que podrían ser aplicados conjuntamente con intervenciones ya utilizadas, como la técnica del forage.

### 2.2.1 Utilización de terapia celular en ONCF.

Las células madre se caracterizan por ser capaces de autorreplicarse, es decir, de generar células con sus mismas características y propiedades, de forma casi indefinida y por ser capaces de diferenciarse, es decir, originar células con potencial para dar producir tipos celulares especializados capaces a su vez de formar tejidos específicos.

Las células madre embrionarias (ESCs) son células madre pluripotenciales, es decir, capaces formar cualquier tejido del cuerpo y que



podrían por lo tanto, ser utilizadas para promover la formación de tejido óseo. Sin embargo, una de las principales preocupaciones que surge en torno a la terapia con estas células es la seguridad. Las ESCs comparten algunas características con las células cancerosas, incluyendo su resistencia relativa a la apoptosis, y una gran capacidad para replicarse. Además, en el mantenimiento del cáncer y de las ESCs intervienen reguladores de crecimiento y mecanismos de control similares. Por lo tanto, existe la posibilidad de que las ESCs pudieran sufrir una transformación maligna, lo que se considera un obstáculo extremadamente importante para el uso seguro de terapias basadas en ellas [131]. De hecho, se ha comprobado que el trasplante de ESCs puede aumentar el riesgo de formación de teratoma [132], lo que acentúa la preocupación asociada al uso de este tipo de células. Además de su potencial tumorigénico, existen otros problemas que hacen que su utilización en terapia no sea aún segura clínicamente. Entre estos problemas cabe destacar el posible rechazo por parte del sistema inmune del receptor o los problemas éticos derivados de la necesidad de llevar a cabo su obtención a partir de embriones humanos.

La experiencia clínica ha demostrado que el hueso muerto puede sustituirse por hueso vivo, sin embargo, el potencial de reparación osteogénica en ON parece estar disminuido comparado con el de un hueso sano. En caderas osteonecróticas hay un aumento de médula ósea amarilla (grasa) en la porción intertrocanterica, y este aumento de adipocitos de la médula sumado a las alteraciones vasculares que se producen en la ONCF parece estar relacionado con las anomalías de células madre osteogénicas [133;134]. Se ha sugerido que las células madre o progenitoras de hueso sufren, en casos de ONCF, un declive de su capacidad osteogénica a favor de su capacidad adipogénica, lo cual estaría en concordancia con ese aumento de la cantidad de adipocitos en la médula de individuos con ONCF.

Aceptando la premisa de que una parte importante de la patología subyacente en ON es la alteración de la función de las células madre osteogénicas, el siguiente paso racional es considerar el uso de tratamientos basados en células madre con capacidad osteogénica para mejorar la regeneración del hueso perdido o dañado. En este marco tienen especial importancia las células madre mesenquimales multipotentes (MSCs) debido a su capacidad para multiplicarse y diferenciarse en diversos tipos celulares, como osteoblastos, osteocitos, condrocitos y adipocitos [135]. Además, el hecho de que las MSCs se puedan obtener de un tejido adulto del propio organismo o del cordón umbilical, hace que no se produzca rechazo inmunitario y que no exista un conflicto ético sobre su obtención.

Aunque, las MSCs actúan a través de diversas vías tenemos que destacar dos funciones fundamentales que podrían evitar la progresión de la ON: (I) la secreción de un amplio espectro de factores antiinflamatorios, antiapoptóticos, proangiogénicos, proliferativos o quimioattractivos, y (II) la capacidad para diferenciar produciendo células que restauran un tejido funcional [136].

Las MSCs (I) son fáciles de obtener (II) son relativamente abundantes, (III) poseen buenas propiedades osteogénicas y son capaces de interactuar con citoquinas angiogénicas, para dar lugar a la formación de nuevos vasos sanguíneos [137]. Existen diversos tipos de MSCs que podrían ser utilizados para tratar la ONCF, incluidas las MSCs derivadas de la médula ósea (BM-MSCs), las MSCs derivadas del tejido adiposo (AD-MSCs), las MSCs alogénicas derivadas del cordón umbilical humano (hUC-MSCs) y las MSCs de la sangre periférica (PB-MSCs). Entre estos tipos de MSCs, los BM-MSCs son el tipo más comúnmente utilizado, y se utilizan principalmente formando parte de un concentrado de médula ósea (BMC)[138].

A pesar de que su uso está muy extendido, las BM-MSCs tienen desventajas que no pueden ser ignoradas, como su escasa presencia en la médula ósea (únicamente 0'01-0'001% de las células de la médula ósea son MSCs) y un procedimiento de extracción doloroso que implica posibles complicaciones quirúrgicas y postoperatorias. Por ello, las MSCs obtenidas de otros tejidos han atraído la atención de los investigadores debido a su alto rendimiento. Se han realizado estudios utilizando AD-MSCs y hUC-MSCs, cuyos resultados son prometedores. Por una parte, las AD-MSCs son más abundantes, fáciles de obtener y muestran un fenotipo funcional superior al de las BM-MSCs en cuanto a proliferación y diferenciación *in vitro* [139]. Por otra parte, las hUC-MSCs son también buenas candidatas ya que la colección de cordón umbilical es fácil y éticamente factible, el rendimiento de la células es alto, y tienen baja inmunogenicidad [140]. A pesar de que estos resultados son prometedores, actualmente se necesitan más estudios clínicos prospectivos *in vivo* bien diseñados para confirmar aún más estas conclusiones, por lo que el método más utilizado actualmente es el trasplante autólogo de BM-MSCs.

El lugar más común del que obtener la médula ósea es la parte anterior o posterior de la cresta ilíaca, dependiendo del posicionamiento del paciente y la preferencia del cirujano. El procedimiento se realiza mediante el uso de una sola aguja de aspiración biselada. La mayor calidad de aspiración de la médula ósea (número de células madre/progenitoras) se obtiene cuando el aspirado se hace en pequeños volúmenes (1–2ml) y desde diferentes localizaciones, ya que cuando se extrae un volumen mayor de una sola zona, la sangre periférica se infiltra y diluye el aspirado [141]. Técnicamente, con el fin de lograr aspirar desde múltiples localizaciones, la aguja se mueve durante sucesivas aspiraciones, permitiendo así el acceso al espacio más grande posible. Después de una vuelta completa, la aguja se mueve lentamente hacia la superficie y el proceso se repite. El volumen final del aspirado, que puede oscilar entre 30 y 120ml, se filtra para separar los agregados celulares y la grasa. El material aspirado debe reducirse en volumen para su posterior reinyección con el fin de aumentar la concentración de células madre. Esto se hace mediante un proceso de centrifugación, que separa los glóbulos rojos y el plasma de las células mononucleares, dentro de las que se encuentran las BM-MSCs, los monocitos y los linfocitos.

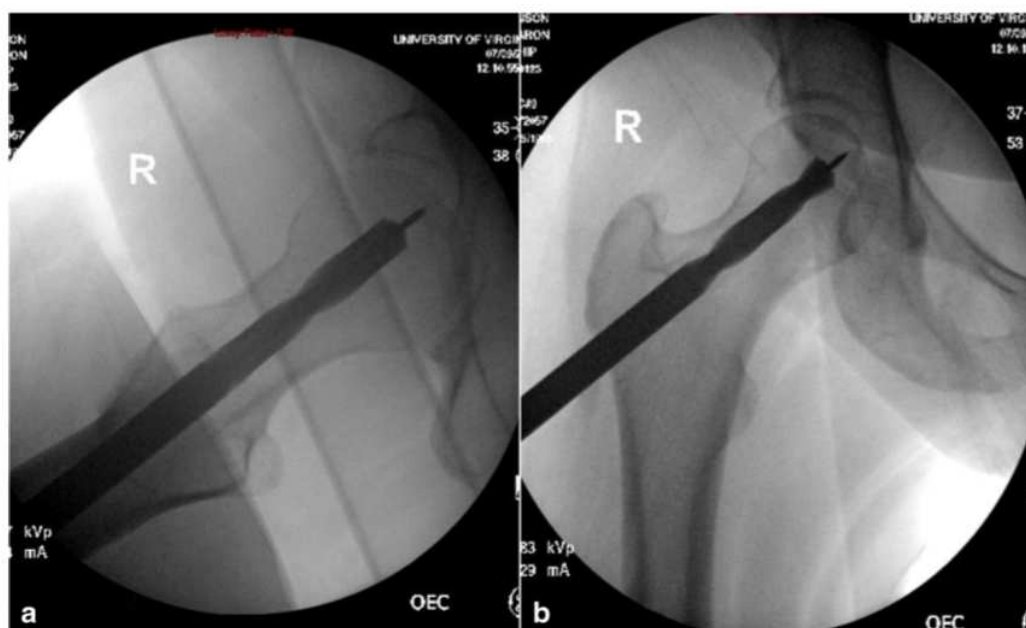
Aunque existe cierta controversia, parece que los resultados generales del uso de concentrado de médula ósea para tratar la ONCF son positivos. Las razones de la variedad de resultados puede ser debida a la heterogeneidad

entre los estudios, incluyendo las diferencias en la selección de pacientes, en los métodos de recolección de células, en el procesamiento de estas y en el método de implantación [142;143].

### 2.2.2 Método de aplicación de las MSCs.

Hernigou et al.(2002) [144] fueron pioneros en la aplicación clínica de una estrategia celular para el tratamiento de la necrosis avascular. Este procedimiento consistía en inyectar, por vía percutánea, un concentrado de médula ósea autóloga en el área necrótica de las cabezas femorales. Para realizar esta técnica, después de la descompresión del núcleo (forage), se inyecta un concentrado de médula ósea, obtenido como se ha descrito en la sección anterior, en el área necrótica. El forage es el procedimiento más común para llevar a cabo la inyección intraósea de BM-MSCs, especialmente cuando se trata de lesiones pequeñas o medianas en la etapa de pre-colapso [145].

La perforación se puede guiar por visualización directa gracias a la artroscopia [146](**Figura 12**). Esto asegura la exactitud de la colocación de las BM-MSCs inyectadas en la lesión necrótica. No se observa reflujo del contenido inyectado, ya que el fluido se difunde al hueso esponjoso circundante de la cabeza femoral. Durante el tiempo de inyección, la presión en la cabeza femoral puede elevarse, pero se restaura un patrón de presión normal una vez finalizada la inyección [136].



**Figura 12:** Radiografías de AP y fluoroscópicas laterales tomadas durante un procedimiento de descompresión del núcleo. Un pasador guía se coloca por primera vez en la lesión osteonecrótica, y se perfora con un escariador cannulado (8 – 10 mm dependiendo del tamaño de la lesión). Imagen tomada de Eric Larson et al (*International Orthopaedics* 2018) [147].

Numerosos estudios sostienen que el resultado de la inyección intraósea de MSCs (en forma de concentrado de médula ósea) está asociado a la condición del paciente, fundamentalmente al estadio de la ONCF. Los

pacientes con estadios avanzados de la enfermedad (estadios III o IV de Ficat y Arlet) son propensos a tener peores resultados que aquellos que padecen ONCF en una etapa temprana (estadios I o II) [148]. Además, Sen et al.(2012) [149] aseguran que los pacientes con caderas osteonecróticas post-traumáticas tienen mejores resultados que los pacientes con caderas no traumáticas, lo que sugiere que la etiología es otro factor que afecta los resultados clínicos de estos procedimientos. Además, parece que el tamaño de la lesión necrótica o su morfología pueden ser factores importantes asociados con el resultado del tratamiento. Por lo tanto, para lograr mejores resultados, es fundamental seleccionar los casos apropiados.

Por otra parte, Además, se ha demostrado que el envejecimiento se asocia con disminuciones en el número de MSCs aisladas del donante y la capacidad de proliferación de dichas células [150]. Además de la edad, algunos estudios [151] encontraron que el sexo puede afectar al potencial de diferenciación de las AD-MSCs humanas. Sin embargo, otro estudio informaba de que esta variable no tuvo ningún efecto en los resultados[149]. Se necesitarán, por lo tanto, estudios adicionales centrados en el análisis de subgrupos y los criterios de inclusión apropiados para la terapia con MSCs en pacientes con ONCF.

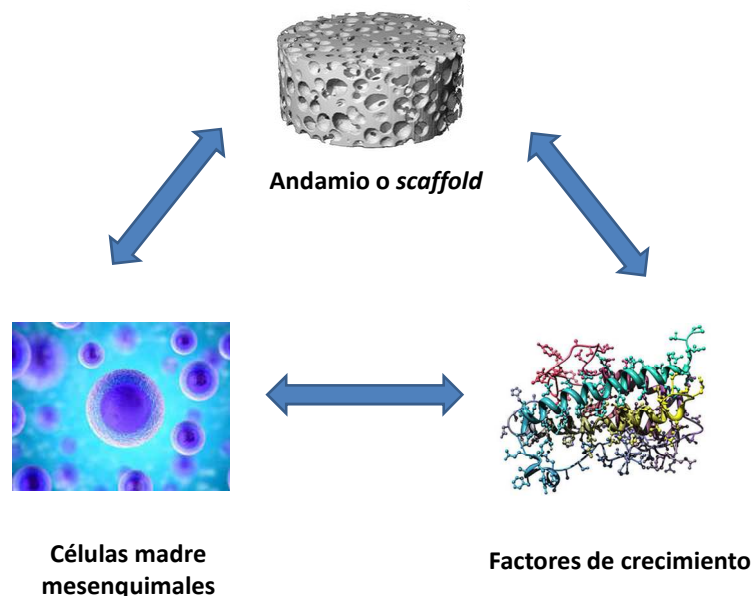
Además de la aplicación de MSCs combinada con forage, algunos estudios también aplicaron las MSCs a través de la inyección arterial. Cai et al.(2014) transplantaron MSCs en la arteria femoral circunfleja medial, la arteria femoral circunfleja lateral o la arteria del obturador a través de la angiografía por sustracción digital y observaron un efecto terapéutico sobre la ONCF sin efectos adversos graves [152]. Mao et al. (2014) reportaron la infusión intra-arterial de PB-MSCs y descubrieron que este enfoque podría mejorar la eficacia del soporte biomecánico durante el tratamiento de la ONCF [153]. Estos dos estudios proporcionaron pruebas de que las MSCs podrían actuar eficazmente sobre las zonas isquémicas. Sin embargo, determinar si la aplicación tópica o la infusión intra-arterial de MSCs es más eficaz requiere una mayor investigación.

### **2.2.3. Aplicación de las nuevas tecnologías en la terapia celular**

A pesar de lo prometedor de la terapia celular para el tratamiento de la ONCF, se ha comprobado que el método de las implantaciones celulares tiene algunas limitaciones. Cabe señalar que dicho método solo es eficaz para los pacientes en la etapa temprana de la ONCF [154]. En la ONCF avanzada, las células madre introducidas por sí solas a nivel de la lesión no tienen la capacidad para regenerar la zona afectada. Además, como ya se ha comentado, las MSCs extraídas de las trabéculas necróticas presentan una disminución en su capacidad de proliferación y de osteogénesis [155]. En ONCF avanzada, la capacidad de formación de colonias de células progenitoras endoteliales en los vasos sanguíneos periféricos a la necrosis disminuye, y la capacidad de secretar el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) también disminuye lo que da lugar a un agravamiento de la

necrosis, puesto que no hay ningún suministro de sangre en el área necrótica [156]. Por otra parte, la lipotoxicidad es un factor importante en la ONCF inducida por corticoides: el aumento de los niveles de palmitato y oleato conducen a la desregulación de algunas enzimas, así como la mayor expresión de la interleucinas (IL-6 e IL-8) que promueven la adipogénesis e inhiben osteogénesis [157] a nivel de las MSCs. Además, en MSCs se han detectado cambios en la expresión de determinados genes y microRNAs que parecen jugar un papel importante en la progresión de la ONCF, alterando la capacidad osteoformadora de las MSCs.

Para superar los obstáculos que presenta la terapia celular en la regeneración ósea, surgió la ingeniería de tejidos. Esta nueva rama de la Biomedicina está basada en una tríada formada por células progenitoras (células madre), una matriz tridimensional (andamio o *scaffold*) y un componente molecular bioactivo (factores de crecimiento) (**Figura 13**). En lo que se refiere a su aplicación a la regeneración ósea, las técnicas de ingeniería de tejidos que se están testando consisten en aislar las células extraídas de una zona sana del paciente y expandirlas *in vitro* para después sembrarlas en un andamio tridimensional que se introducirá a nivel de la lesión. Posteriormente las células son estimuladas mediante la administración de determinados factores de crecimiento para promover la osteogénesis y la regeneración ósea.



**Figura 13:** Tríada de la Ingeniería de Tejidos óseos: andamio tridimensional, células progenitoras y factores de crecimiento.

### 2.2.3.1. Scaffolds para la implantación de MSCs.

Uno de los principales problemas a los que se enfrentan las técnicas celulares de regeneración de hueso es que sólo un pequeño porcentaje las células osteoformadoras intrudidas en el tejido receptor son capaces de establecerse en dicho tejido y diferenciarse para regenerar el tejido óseo. Los scaffolds o andamios tienen una función fundamental, ya que sirven como matriz para la adhesión celular y como soporte de las células progenitoras, facilitando el establecimiento del injerto. Lo ideal es que los materiales utilizados como scaffolds sean biocompatibles y biodegradables, hechos de un material radiolúcido para que puedan ser visualizados mediante técnicas de imagen, y que tengan unas propiedades mecánicas, físicas y químicas adecuadas para mantener la funcionalidad.

Aunque la variedad de scaffolds utilizados en la actualidad es enorme, en general se pueden diferenciar dos grandes grupos que corresponderían a los scaffolds sintéticos y a los no sintéticos. Los materiales utilizados para crear scaffolds sintéticos son el ácido poliláctico (PLGA), [158], una combinación de éste con fosfato cálcico (PLGA-CPC) [159] [160], varillas de tantalio [161;162], polifosfato de calcio combinado con estroncio (SSCPP) [163], fosfato  $\beta$ -tricalcico ( $\beta$ -TCP) [164] y andamios cerámicos de fosfato cálcico (BCP) [165]. Las varillas de tantalio y los andamios cerámicos BCP se consideran prometedores para su uso clínico, debido a su alta resistencia, a su buena osteointegración y su porosidad óptima. Además, los andamios BCP pueden fabricarse en base al modelo de trabécula ósea reconstruida de imágenes de tomografía microcomputada.

Los scaffolds no sintéticos incluyen matriz ósea desmineralizada (DBM) [166], portadores de bisfosfonatos [167], sustituto óseo de xenoinjerto [168], pelaje de médula ósea (BBC) [169], pegamento de fibrina [170] y submucosa del intestino delgado (SIS). Todos ellos tienen baja inmunogenicidad y alta histocompatibilidad. Algunas propiedades naturales de estos materiales son extremadamente importantes para algunas aplicaciones, como son su microestructura, que facilita el "anidamiento" de las células madre, o resistencia de algunos de ellos, como la del hueso trabecular natural.

Además de la elección de los tipos de materiales que constituirán los andamios, la proporción de cada uno de estos materiales utilizados, cuando se trata de una combinación de dos o más compuestos diferentes, es clave en la optimización, ya alterando estas proporciones, se pueden equilibrar la resistencia y la elasticidad del material para adaptarlas a los requerimientos mecánicos de la zona donde se va a realizar ese implante [171]. Además de la proporción de cada componente, debemos prestar más atención a la influencia del diseño de la estructura tridimensional del andamio, un factor que parece tener mucha importancia en el proceso de regeneración ósea y articular [172].

Aunque los andamios actuales tienen un cierto efecto terapéutico, sus estructuras y propiedades no han sido profundamente estudiadas por lo que

el desarrollo de andamios superiores para el uso conjunto con MSC es un claro objetivo futuro en este campo.

### **2.2.3.2. Potenciamiento de la capacidad osteogénica de las MSCs.**

El número de MSCs transplantadas que realmente son capaces de establecerse en el tejido receptor y diferenciarse para dar lugar a nuevo tejido óseo es muy reducido. La mayoría de las células madre no se diferencian en nuevos osteoblastos una vez implantadas, sino que desempeñan un papel de regulación por efectos paracrinos [173]. En este sentido, el número de células madre que se implantan puede influir en el efecto terapéutico, pero la implantación de un número muy elevado de células podría dar lugar a otros efectos secundarios. Alternativamente, la capacidad de proliferación y de diferenciación osteogénica de las MSCs puede mejorarse mediante su pretratamiento *in vitro* [174] a través de diversos métodos, incluyendo transgenes [175], fármacos [176] o inhibidores de microRNAs [177] para promover su capacidad osteogénica una vez implantadas.

Muchos estudios han demostrado los factores que influyen en la diferenciación y proliferación osteogénica de las BM-MSCs en diferentes grados. Uno de los factores que resulta crucial para regular la capacidad de proliferación y diferenciación de las MSCs es el Factor de Crecimiento de los Hepatocitos (HGF de sus siglas en inglés), regulado por c-MET, p27, RUNX2 y OSTERIX, todos ellos genes claves en la diferenciación y proliferación celular. Se ha comprobado, que la diferenciación se promueve a una concentración baja (20ng/mL) de HGF, mientras que una concentración alta (100ng/mL) como resultado de por la vía de señalización de ERK1/2 sobreactivada favorece su proliferación [178]. El factor estimulante de colonias de granulocitos y el factor de células madre (G-CSF/SCF) promueven la osteogénesis de la BM-MSCs e inhiben la apoptosis dependiente de caspasa-3 (CAS3) [179]. La glicoproteína p (P-GP) sola o inducida por Icaritin puede aliviar el estrés oxidativo de las BM-MSCs y promover la osteogénesis [180]. La expresión de PPAR $\gamma$  y la proteína de unión a ácidos grasos 4 (Fabp4) presenta efectos antiadipogénicos asociados con la  $\beta$ -catenina aumentada y la fosforilada GSK-3 $\beta$  reducida en el sitio de Tyr-216 [181]. La disminución de la expresión VEGF puede tener consecuencias desastrosas para la vascularización [182].

Otras sustancias, como el cloruro de litio (LiCl), promueven la osteogénesis de las BM-MSCs mediante la inhibición de la adipogénesis. La vitamina E muestra efectos protectores contra la apoptosis mediante la reducción de la expresión de la caspasa-3 y la expresión de la BCL-2 aumentada [183]. La vitamina K2 es antagonista de los corticoides y promueve la formación ósea y la expresión de proteína morfogenética ósea (BMP) [184].

Los niveles de expresión de todos los factores mencionados anteriormente, cuya presencia en mayor o menor concentración tiene un efecto importante en la capacidad osteogénica de las BM-MSCs, puede modularse utilizando diferentes aproximaciones. Una de ellas es la introducción de

material genético externo destinado por un proceso conocido como transfección.

Se ha demostrado en conejos modelo con ONCF, que las ADSCs inducidas a la diferenciación osteogénica puede mejorar la formación de hueso y promover la vascularización [185]. La introducción en AD-MSCs mediante transfección de el péptido W9 puede bloquear la señalización del factor nuclear- $\kappa$ B-(RANKL-) y mejorar la osteogénesis incluso en condiciones que no favorecen dicha osteogénesis [186]. Por otra parte, las BM-MSCs pueden tener la capacidad de secretar VEGF después de la transfección del gen VEGF-165 en las células por Lipofectamina. En este sentido, se ha comprobado que la introducción de un gen VEGF-165 modificado tanto en las AD-MSCs como en la BM-MSCs también promueve la osteogénesis y la angiogénesis [187]. Otros autores han demostrado que la introducción en MSCs del gen *Foxc2*, que codifica el HGF, a través de un vector lentivírico [188] es capaz de promover la osteogénesis en dichas células por lo que este gen parece ser un candidato prometedor para el tratamiento de ONCF [189].

Además de la modulación de la expresión génica mediante la introducción de genes, como el caso de VEGF ya mencionado [187] mediante vectores víricos o de otro tipo, otro modo de modificar la expresión génica de las células progenitoras con el fin de mejorar su capacidad osteogénica es a través de los microRNAs (miRNAs). Estos miRNAs son RNAs de pequeño tamaño (alrededor de 22 pares de bases) que pueden unirse de forma específica a un RNA mensajero promoviendo su destrucción o impidiendo su reconocimiento por la maquinaria de traducción. En cualquier caso, la unión de un miRNA a su mRNA diana tiene como consecuencia la reducción de los niveles de proteína para la que codifica dicho mRNA. La activación o el silenciamiento de un miRNA pueden ser un método eficaz para la recuperación de la capacidad osteogénica de las células madre. Sin embargo, la seguridad biológica de su uso todavía requiere evidencia experimental significativa. Basado en esto, existen cinco miRNAs que pueden ser objetivos prometedores para mejorar las actividades de las células madre. El miR-708 está sobreexpresado en MSCs de pacientes con ONCF inducida por corticoides, por lo que reducir miR-708 podría evitar la inhibición de la osteogénesis provocada por los glucocorticoides [190]. La desmetilación miR-210 promueve su expresión y aumenta la viabilidad y diferenciación de las células endoteliales para la angiogénesis [191]. La sobreexpresión de miR-548D-5p mejora la expresión de osteocalcina, una hormona liberada por los osteoblastos durante la formación de hueso que se incorpora a la matriz ósea, de RUNX2, un factor de transcripción osteogénico, y de la fosfatasa alcalina (ALP). Por lo tanto, la sobreexpresión de miR548D-5p podría ayudar a la diferenciación osteogénica. La desregulación y el bloqueo de HOTAIR (HOX transcript antisense RNA), un ARN no codificante largo, aumenta los niveles de miR-17-5p, promoviendo la expresión de COL1A1 (gen que codifica el colágeno tipo I), RUNX2 y ALP [192;193]. Por otro lado, las dianas del miRNA-27A son PPAR $\gamma$ , el receptor gamma de la proliferación de peroxisomas, cuya función es indispensable para la diferenciación adipogénica, y Gremlin 1, un antagonista de las proteínas morfogénicas del hueso, por lo que su bloqueo también podría mejorar teóricamente la capacidad osteogénica de las MSCs.



#### **2.2.3.4. Factores de crecimiento.**

Uno de los pilares de la regeneración tisular, y en particular del tejido óseo, son los factores de crecimiento. Un estudio realizado en 1965, describió unas proteínas presentes en la matriz extracelular que eran capaces de inducir la formación ósea: las proteínas morfogénicas óseas (BMPs) [194]. Estas biomoléculas pertenecen a la superfamilia del factor de crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), y tienen un papel fundamental en la diferenciación durante la etapa embrionaria, y en la regeneración de tejidos en el adulto [195] manteniendo la homeostasis.

Existen 20 tipos de BMPs, con diferentes funciones según el receptor al que se unan y el tejido en el que se expresen. El descubrimiento original de BMPs como factores osteoinductivos impulsó a estudiar sus niveles de expresión BMP *in vivo* [196]. Los niveles de transcripción de hBMP-2,-4,-6 y-7 aumentan con el tiempo, durante el proceso de formación ósea; aunque todas ellas tienen propiedades osteoinductivas, BMP-2 se posiciona como la más potente. Las BMPs se unen a diferentes receptores específicos: bone marrow protein receptors (BMPRs), activando una ruta que da lugar a la transcripción de genes del núcleo; el funcionamiento adecuado de las rutas activadas por las BMPs al unirse a su receptor es clave para la actividad osteogénica [197].

Como ya se ha comentado en el apartado de *scaffolds*, hoy en día los andamios tridimensionales utilizados en la regeneración ósea son capaces de imitar las propiedades del hueso; además, se pueden incorporar en estas estructuras diferentes factores de crecimiento osteoinductivos. En este sentido, tras integrar TGF $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ), BMPs (bone morphogenetic proteins), IGFs (insulin-like growth factors), PDGFs (platelet-derived growth factors) o VEGFs (vascular endothelial growth factor) en estas estructuras, se ha demostrado que se puede promover y facilitar la regeneración ósea [198]. Aunque la aplicación de BMPs para promover la osteogénesis de MSCs una vez implantadas en el tejido receptor ha tenido unos resultados prometedores hasta el momento, cuenta con algunos obstáculos como el llevar a cabo la liberación de estos factores de crecimiento de manera efectiva o el evitar los efectos secundarios asociados a su aplicación a nivel local, como pueden ser la formación de hueso ectópico, tumorigénesis, o alteraciones en la adipogénesis [199]. Por lo tanto, es necesario seguir investigando sobre como utilizar estos factores de crecimiento de forma segura y efectiva.

#### **2.2.4 Resultados y seguridad de la terapia celular en ONCF.**

Los resultados clínicos se analizan generalmente con la función de la cadera, la aparición de colapso posterior, y la necesidad de artroplastia total de cadera. A veces se observa la reducción de volumen de la lesión y la restauración de las señales de RM de una médula ósea viva. Sin embargo, parece que hay muchas variaciones de la señal cuando el tejido anormal (tejido normal, osificación, tejido fibroso) se repara con ausencia de colapso. Además, cuando se utilizan andamios (hidroxiapatita), la presencia de sustituto óseo

permanece visible en la cabeza femoral durante mucho tiempo (varios años), y este actúa como un artefacto que dificulta la evaluación de la reparación exacta.

La mayoría de los estudios coinciden en que cuando los pacientes son operados antes del colapso y reciben un mayor número de inyecciones, se puede esperar un mejor resultado [141]. Otro estudio sostiene que la mejor indicación para realizar el trasplante es la etapa de pre-colapso y la cadera era sintomática [144]. En dos estudios realizados por Papakostidis et al. [135] (2016) y Hernigou et al. [136] (2016) sus hallazgos indican que la aplicación del concentrado de médula ósea autóloga en combinación con la descompresión del núcleo osteonecrótico de las cabezas femorales es superior al tratamiento de descompresión del núcleo, ya que se descubrió que frenaba notablemente la progresión de la enfermedad a la etapa del colapso de la cabeza femoral, y también limitaría la necesidad de artroplastia total de cadera. En este momento, la mayoría de los estudios clínicos mantienen como resultado la ausencia de colapso durante la evolución de los pacientes tratados con esta terapia.

Después de una revisión de los estudios actuales que utilizaron células madre en el tratamiento de la ONCF, descubrimos que la mayoría de los estudios informaron que no se observaron complicaciones graves. Solo unos pocos estudios informaron que los pacientes tenían complicaciones, como enrojecimiento, dolor de cabeza leve y fiebre [200]. Por lo tanto, en base a los estudios actuales, parece que la aplicación de células madre para el tratamiento de la ONCF es relativamente segura. Sin embargo, aún se necesitan estudios adicionales y seguimiento a largo plazo para confirmar esta conclusión.

En el futuro, se espera que los resultados del proceso terapéutico de aplicación de células madre pueda ser monitorizado gracias a los desarrollos del rastreo celular que se han disparado en los últimos años. Sin embargo, los grandes trazadores *in vivo* están todavía limitados por sus propiedades (profundidad de penetración limitada de los tintes fluorescentes, respuesta de baja sensibilidad de sonda magnética o alta biotoxicidad). Los trazadores seguros y efectivos todavía están en desarrollo [201].

### **2.2.5. Perspectivas de futuro en la terapia celular para el tratamiento de la ONCF.**

La tecnología de células madre multiescala, es decir, a través de los múltiples procedimientos (potenciación osteogénica, desarrollo de andamios más efectivos, factores de crecimiento) tiene un gran potencial para retrasar el progreso de la ONCF y para la regeneración ósea, a pesar de que se trata de una terapia aún en desarrollo. El campo está evolucionando rápidamente y constantemente se están publicando variedad de estudios *in vitro*, *in vivo* o incluso ensayos clínicos. Sin embargo, el objetivo de la curación permanente

de la ONCF a través de tecnologías de células madre multiescala sigue siendo difícil de lograr.

Actualmente existen diez ensayos clínicos activos sobre la terapia celular en pacientes con ONCF a nivel mundial, siete de ellos ya han completado alguna fase y los otros tres tienen aún fases en curso. A continuación vamos a citar las principales características de cada uno de esos estudios.

1. Estudio liderado por la Universidad Autónoma de Madrid, evalúa la seguridad y viabilidad de las MSC autólogas derivadas de la médula ósea para mejorar la curación ósea en pacientes con necrosis avascular de la cabeza femoral; se trata de un estudio abierto con 26 participantes en el que se cultivaron células mesenquimales aisladas de la médula ósea, se expandieron y se introdujeron al final del foraje apropiado hasta la cabeza femoral bajo control fluoroscópico.
2. 2. Ensayo liderado por la Universidad Autónoma de Barcelona, con 24 participantes, evalúa el efecto de XCEL-MT-OSTEO-ALPHA, un producto de ingeniería de tejidos compuesto por células madre mesenquimales autólogas expandidas *ex vivo* y fijadas en tejido óseo alogénico.
3. Ensayo coordinado por la Universidad de Bolonia cuenta con 104 participantes y compara dos grupos de pacientes tratados con el mismo procedimiento pero con dos técnicas regenerativas diferentes: Por un lado, 52 pacientes con necrosis en una etapa temprana, sin deformidad de la epífisis femoral (etapa 2A-BC en la clasificación ARCO), se someterán a una amplia descompresión del área necrótica y reconstrucción con chips óseos liofilizados homólogos (LBC), factores de crecimiento del concentrado de plaquetas Fibrina rica en plaquetas (PRF) y médula ósea concentrada (CBM). Por otro lado, 52 pacientes con necrosis de características similares, sin deformidad de la epífisis femoral, se someterán a una amplia descompresión del área necrótica y reconstrucción con matriz ósea desmineralizada (DBM), factores de crecimiento de plaquetas ricas en fibrina (PRF) y médula ósea concentrada (CBM).
4. Estudio dirigido por la Universidad de Erasme (Liege) tiene como objetivo principal investigar la seguridad y la eficacia de la implantación del producto en investigación PREOB® (células osteoblásticas derivadas de la médula ósea humana autóloga) en comparación con el concentrado de médula ósea (BMC) con un periodo de seguimiento de hasta 5 años; la implantación de ambos productos se lleva a cabo tras una descompresión del núcleo.
5. Estudio realizado por el Hospital Universitario de Salamanca, tan solo cuenta con 3 participantes y estudia una suspensión de células madre mesenquimales obtenidas por aspirado de médula ósea del paciente y expandidas *in vitro* en un medio específico enriquecido con lisado de plaquetas sin adición de productos animales, que se implantan mediante una inyección intraósea con trocar en la cabeza femoral.
6. Estudio dirigido por el Royan Institute, está diseñado para evaluar la seguridad clínica y la eficacia de la infusión de médula ósea enriquecida para CD133<sup>+</sup> tras la descompresión del núcleo en pacientes con necrosis

- vascular de la cabeza femoral. Los pacientes se someterán a descompresión seguida de infusión de células CD133<sup>+</sup> en el área central.
7. El séptimo estudio, dirigido por la Universidad de Erasme (Liege), cuenta con 50 participantes y compara dos grupos de pacientes: la mitad recibe una inyección de 40 ml de médula ósea autóloga concentrada tras la descompresión del núcleo, y la otra mitad una inyección de 40 ml de solución salina en lugar de médula ósea.
  8. Estudio también dirigido por la Universidad de Erasme (Liege), cuenta con 21 participantes divididos en dos grupos, uno de ellos era tratado únicamente con descompresión del núcleo, y el otro un implante de médula ósea en la lesión necrótica tras la descompresión.
  9. El propósito del noveno estudio es determinar si el injerto de Ixmyelocel-T con matriz ósea desmineralizada unida en plasma autólogo después de la cirugía de descompresión del núcleo es superior a la descompresión con matriz ósea desmineralizada unida en plasma autólogo para prevenir la progresión de la osteonecrosis a un estadio más grave. Para ello, el primer grupo de pacientes (Grupo de tratamiento) recibió descompresión del núcleo y tratamiento con Ixmyelocel-T y matriz ósea desmineralizada unida en plasma autólogo, y el segundo grupo de pacientes (Grupo de control) recibió descompresión del núcleo y matriz ósea desmineralizada unida en plasma autólogo, sin Ixmyelocel-T.
  10. Por último, el décimo ensayo estudia el trasplante autólogo de MSCs derivadas de tejido adiposo, infundiendo en la cabeza femoral células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo en una dosis:  $1 \times 10^8$  células / 3 ml.

En vista de esto, queda claro que la terapia celular para el tratamiento de la ONCF es un campo que está recibiendo mucha atención en los últimos años por parte de diferentes entidades, por lo que se espera que en un futuro próximo podamos ser testigos de importantes avances en este campo.

Por último, pero no por ello menos importante, para acelerar los avances en este ámbito, se debe aumentar sustancialmente la financiación de la tecnología de células madre para el tratamiento con ONCF. En comparación con otras técnicas de tratamiento de cadera (p. ej., técnicas de prótesis de metal o cerámica), la tecnología de células madre ha tenido un progreso lento, que refleja, al menos en parte, una inversión insuficiente. Afortunadamente, en los últimos años, se han creado más oportunidades de financiación en el campo de la tecnología de células madre para el tratamiento de ONCF. Es muy probable que las tecnologías basadas en el uso de células madre revolucionen las terapias actuales de la ONCF en un futuro previsible.

### 3. CONCLUSIONES

- La ONCF es una entidad clínica relativamente frecuente que afecta a personas plena etapa productiva, causando una importante limitación funcional. Debido a esto, la ONCF requiere una mayor investigación para frenar su progreso, ya que, a pesar de los avances en este campo, la inmensa mayoría de estos pacientes terminan precisando una artroplastia total de cadera a una edad muy temprana, con los consiguientes problemas derivados de este tipo de intervenciones.
- Todo lo relacionado con la etiología, patogenia, y el tratamiento de la ONCF es motivo de controversia. A pesar de que el conocimiento sobre esta patología es amplio, muchos de los puntos tratados en este trabajo, tales como la influencia de otros factores de riesgo además de los corticoides o el alcohol, o la patogenia de la propia enfermedad, continúan sin determinarse con exactitud.
- A pesar de la innegable aportación de la RM para el diagnóstico de la ONCF, puesto que es la técnica más sensible, el diagnóstico de la ONCF en estadios tempranos continúa presentando dificultades. El diagnóstico antes de que ocurra el colapso de la cabeza femoral es el principal factor pronóstico, por lo que una técnica que permita un diagnóstico precoz en todos los casos es un campo de investigación muy interesante para el futuro de esta enfermedad.
- En los últimos años se han desarrollado diferentes opciones de tratamiento de la ONCF. De todas ellas, la terapia con células madre es la que probablemente tiene un futuro más prometedor. Aunque es una técnica aún en sus comienzos, esta aproximación puede ofrecer importantes avances al tratamiento de esta enfermedad. Sin embargo, a día de hoy, son necesarios más ensayos clínicos e investigación sobre este tema para que la aplicación de terapias con células madre con eficiencia y seguridad, sea por fin posible en pacientes con ONCF.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a Flor, directora de este TFG y pieza fundamental en su realización. Por su atención prestada durante todo el curso, y su interés durante la realización del mismo. Este trabajo no estaría concluido sin su tiempo de dedicado y sin su paciencia.

Al Dr. Cardín, por su contribución en la parte de diagnóstico, la cesión de imágenes y el tiempo dedicado.

A mis padres, que siempre están cerca a pesar de la distancia. Una vez más a lo largo de esta carrera y de la vida en general, han demostrado su confianza en mí. Su comprensión ha sido el mejor aliado durante estos años.

A los amigos de verdad que he hecho durante estos 6 años, que han sido aplauso en las victorias y consuelo en las derrotas. Probablemente sean el mejor regalo que me ha dado la Medicina.

A todos los profesores y médicos docentes que me han enseñado la pasión por la profesión, y que no hay mayor conocimiento que saber escuchar al paciente, de los que espero seguir aprendiendo una manera humana de ejercer la Medicina.

A mi abuelo José Mateos, que me ha enseñado la mejor manera de vivir, una lección que no viene en ningún libro, y a disfrutar hasta de las adversidades. Has sido y serás un ejemplo de vida, y un apoyo fundamental a lo largo de estos años. Ojalá sepa vivir la mitad de bien de lo que lo has hecho tú.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gardeniers JWM (1993) The ARCO perspective for reaching one uniform staging system of osteonecrosis. In: Schoutens A, Arlet J, Gardeniers JWM, et al., editors. Bone circulation and vascularization in normal and pathological conditions. New York: Plenum Press 375-380.
2. <https://nutritionreview.org/2013/04/natural-bonebuilding-synergy/femur-blood-supply/>
3. <https://www.aboutkidshealth.ca/article?contentid=1571&language=English>
4. <https://www.orthopaedicsone.com/display/Main/Osteonecrosis+of+the+Femoral+Head>
5. Vail TP CD (1997) The Incidence of Osteonecrosis. in Urbaniak JR, Jones JL, eds. Osteonecrosis: Etiology, Diagnosis, and Treatment, IL American Academy Orthopedic Surgeons 43-48.
6. Morse CG, Mican JM, Jones EC, Joe GO, Rick ME, Formentini E, Kovacs JA (2007) The incidence and natural history of osteonecrosis in HIV-infected adults. Clin Infect Dis 44: 739-48
7. Jones JP Jr (1994) Concepts of etiology and early pathogenesis of osteonecrosis. Instr Course Lect 43: 499-512.
8. Mont MA, Jones LC, Sotereanos DG, Amstutz HC, Hungerford DS. Understanding and treating osteonecrosis of the femoral head. Instr Course Lect 2000; 49: 169-85
9. Jones JP. Epidemiological risk factors for non-traumatic osteonecrosis. Orthopade 2000; 29: 370-9
10. Prosnitz LR, Lawson JP, Friedlaender GE, Farber LR, Pezzimenti JF (1981) Avascular necrosis of bone in Hodgkin's disease patients treated with combined modality therapy. Cancer 47: 2793-7.
11. Sun W, Li ZR, Shi ZC, Zhang NF, Zhang YC (2006) Changes in coagulation and fibrinolysis of post-SARS osteonecrosis in a Chinese population. Int Orthop 30: 143-6.
12. Koo KH, Kim R, Kim YS, Ahn IO, Cho SH, Song HR, Park YS, Kim H, Wang GJ (2002) Risk period for developing osteonecrosis of the femoral head in patients on steroid treatment. Clin Rheumatol 21: 299-303.
13. Colwell CW Jr, Robinson CA, Stevenson DD, Vint VC, Morris BA (1996) Osteonecrosis of the femoral head in patients with inflammatory arthritis or asthma receiving corticosteroid therapy. Orthopedics 19: 941-6.
14. Felson DT, Anderson JJ (1987) Across-study evaluation of association between steroid dose and bolus steroids and avascular necrosis of bone. Lancet 1: 902-6
15. Karkoulias K, Charokopos N, Kaparianos A, Sampsonas F, Tsiamita M, Spiropoulos K. Aseptic femoral head necrosis in a patient receiving long term courses of inhaled and intranasal corticosteroids. Tuberk Toraks 2007; 55: 182-5 20.
16. Kubo T, Kojima A, Yamazoe S, Ueshima K, Yamamoto T, Hirasawa Y. Osteonecrosis of the femoral head that developed after long-term topical steroid application. J Orthop Sci 2001; 6: 92-4 21.
17. Yamamoto T, Schneider R, Iwamoto Y, Bullough PG. Rapid destruction of the femoral head after a single intraarticular injection of corticosteroid into the hip joint. J Rheumatol 2006; 33: 1701-4

18. Chan MH, Chan PK, Griffith JF, Chan IH, Lit LC, Wong CK, Antonio GE, Liu EY, Hui DS, Suen MW, Ahuja AT, Sung JJ, Lam CW. Steroid-induced osteonecrosis in severe acute respiratory syndrome: a retrospective analysis of biochemical markers of bone metabolism and corticosteroid therapy. *Pathology* 2006; 38: 229-35
19. Wang GJ, Lennox DW, Reger SI, Stamp WG, Hubbard SL (1981) Cortisone-induced intrafemoral head pressure change and its response to a drilling decompression method. *Clin Orthop Relat Res* 274-8.
20. Hungerford DS, Zizic TM (1978) Alcoholism associated ischemic necrosis of the femoral head. Early diagnosis and treatment. *Clin Orthop Relat Res* 144-153.
21. Kitajima M, Shigematsu M, Ogawa K, Sugihara H, Hotokebuchi T (2007) Effects of glucocorticoid on adipocyte size in human bone marrow. *Med Mol Morphol* 40: 150-6.
22. Nishida K, Yamamoto T, Motomura G, Jingushi S, Iwamoto Y (2008) Pitavastatin may reduce risk of steroid-induced osteonecrosis in rabbits: a preliminary histological study. *Clin Orthop Relat Res* 466: 1054-8.
23. Drescher W, Weigert KP, Bunger MH, Ingerslev J, Bunger C, Hansen ES (2004) Femoral head blood flow reduction and hypercoagulability under 24 h megadose steroid treatment in pigs. *J Orthop Res* 22: 501-8.
24. Drescher W, Varoga D, Liebs TR, Lohse J, Herdegen T, Hassenpflug J, Pufe T (2006) Femoral artery constriction by norepinephrine is enhanced by methylprednisolone in a rat model. *J Bone Joint Surg Am* 88 Suppl 3: 162-6.
25. Weinstein RS, Nicholas RW, Manolagas SC (2000) Apoptosis of osteocytes in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the hip. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 2907-12
26. Calder JD, Pearse MF, Revell PA (2001) The extent of osteocyte death in the proximal femur of patients with osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br* 83: 419-22.
27. Ichiseki T, Kaneuji A, Katsuda S, Ueda Y, Sugimori T, Matsumoto T (2005) DNA oxidation injury in bone early after steroid administration is involved in the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis. *Rheumatology (Oxford)* 44: 45660.
28. Fan L, Li J, Yu Z, Dang X, Wang K (2014) Hypoxia-Inducible Factor Prolyl Hydroxylase Inhibitor Prevents Steroid-Associated Osteonecrosis of the Femoral Head in Rabbits by Promoting Angiogenesis and Inhibiting Apoptosis. *PLoS ONE* 9(9): e107774. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107774>
29. Jacobs B (1978) Epidemiology of traumatic and nontraumatic osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 51-67.
30. Orlic D, Jovanovic S, Anticevic D, Zecevic J. Frequency of idiopathic aseptic necrosis in medically treated alcoholics. *Int Orthop* 1990; 14: 383-6
31. Matsuo K, Hirohata T, Sugioka Y, Ikeda M, Fukuda A (1988) Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res* 115-23.
32. Kuga Y (2000) Factors associated with osteonecrosis in the femoral head in chronic alcoholism. *Kurume Med J* 47: 147-9
33. Rico H, Gomez-Castresana F, Cabranes JA, Almoguera I, Lopez Duran L, Matute JA (1985) Increased blood cortisol in alcoholic patients with aseptic necrosis of the femoral head. *Calcif Tissue Int* 37: 585-7.



34. [http://www.cirurgia-osteoaricular.org/adaptingsystem/intercambio/revistas/articulos/2428\\_134.pdf](http://www.cirurgia-osteoaricular.org/adaptingsystem/intercambio/revistas/articulos/2428_134.pdf)
35. Ambrose JA, Barua RS (2004) The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol* 43: 1731-7.
36. Winternitz WW, Quillen D (1977) Acute hormonal response to cigarette smoking. *J Clin Pharmacol* 17: 389-97.
37. Steiner G, Schwartz L, Shumak S, Poapst M (1987) The association of increased levels of intermediate-density lipoproteins with smoking and with coronary artery disease. *Circulation* 75: 124-30.
38. Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, Mori M, Yanagawa H, Ohno Y, Sugioka Y (1993) Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Am J Epidemiol* 137: 530-8.
39. Garcia Criado E, Collantes Estevez E, Rodriguez Torronteras A, Mesa Ramos M, Carpintero Benitez P (1989) [The vascular risk factors in patients with adult ischemic necrosis of the femur head]. *An Med Interna* 6: 417-20.
40. Sakata R (2003) A case-control study of association between life-style, alcohol dehydrogenase 2 and aldehyde dehydrogenase 2 genotype and idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Kurume Med J* 50: 121-3
41. Shibata A, Fukuda K, Inoue A, Higuchi F, Miyake H, Nishi M, Mori M, Ishii S, Nagao M, Yanagawa H (1996) Flushing pattern and idiopathic avascular necrosis of the femoral head. *J Epidemiol* 6: 37-43.
42. Jones JP Jr. Coagulopathies and osteonecrosis. *Acta Orthop Belg* 1999; 65 Suppl 1: 5-8
43. Rosendaal FR. Thrombosis in the young: epidemiology and risk factors. *Afocus on venous thrombosis. Thromb Haemost* 1997;78: 1-6
44. Korompilias AV, Ortel TL, Urbaniak JR. Coagulation abnormalities in patients with hip osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 2004; 35: 265-71.
45. Glueck CJ, Freiberg RA, Wang P. Role of thrombosis in osteonecrosis. *Curr Hematol Rep* 2003; 2: 417-22
46. Celik A, Tekis D, Saglam F, Tunali S, Kabakci N, Ozaksoy D, Manisali M, Ozcan MA, Meral M, Gulay H, Camsari T. Association of corticosteroids and factor V, prothrombin, and MTHFR gene mutations with avascular osteonecrosis in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2006; 38: 512-6
47. Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, van Goor H (2003) Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *J Pathol* 199: 8-17
48. Koo KH, Lee JS, Lee YJ, Kim KJ, Yoo JJ, Kim HJ (2006) Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in patients with nontraumatic femoral head osteonecrosis. *J Orthop Res* 24: 1722-8.
49. Senthil D, Raveendran M, Shen YH, Utama B, Dudley D, Wang J, Wang XL (2005) Genotype-dependent expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and its regulatory proteins in cultured endothelial cells. *DNA Cell Biol* 24: 218-24.
50. Barua RS, Ambrose JA, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC (2001) Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation* 104: 1905-10. .

51. Glueck CJ, Freiberg RA, Oghene J, Fontaine RN, Wang P (2007) Association between the T-786C eNOS polymorphism and idiopathic osteonecrosis of the head of the femur. *J Bone Joint Surg Am* 89: 2460-8.
52. Dubois EL, Cozen L (1960) Avascular (aseptic) bone necrosis associated with systemic lupus erythematosus. *JAMA* 174: 966-71.
53. Petri M (1995) Musculoskeletal complications of systemic lupus erythematosus in the Hopkins Lupus Cohort: an update. *Arthritis Care Res* 8: 137-45.
54. Gladman DD, Chaudhry-Ahluwalia V, Ibanez D, Bogoch E, Urowitz MB (2001) Outcomes of symptomatic osteonecrosis in 95 patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 28: 2226-9.
55. Weiner ES, Abeles M (1989) Aseptic necrosis and glucocorticosteroids in systemic lupus erythematosus: a reevaluation. *J Rheumatol* 16: 604-8.
56. Mont MA, Glueck CJ, Pacheco IH, Wang P, Hungerford DS, Petri M (1997) Risk factors for osteonecrosis in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 24: 654-62.
57. Alarcon-Segovia D, Deleze M, Oria CV, Sanchez-Guerrero J, Gomez-Pacheco L, Cabiedes J, Fernandez L, Ponce de Leon S (1989) Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)* 68: 353-65.
58. Tektonidou MG, Malagari K, Vlachoyiannopoulos PG, Kelekis DA, Moutsopoulos HM (2003) Asymptomatic avascular necrosis in patients with primary antiphospholipid syndrome in the absence of corticosteroid use: a prospective study by magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum* 48: 732-6
59. Murphey MD, Foreman KL, Klassen-Fischer MK, Fox MG, Chung EM, Kransdorf MJ. From the radiologic pathology archives imaging of osteonecrosis: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 2014 Jul-Aug;34(4):1003-28.
60. Luk WH, Au-Yeung AW, Yang MK. Diagnostic value of SPECT versus SPECT/CT in femoral avascular necrosis: preliminary results. *Nucl Med Commun* 2010;31 (11):958–961.
61. Ryu JS, Kim JS, Moon DH, et al. Bone SPECT is more sensitive than MRI in the detection of early osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. *J Nucl Med* 2002;43(8):1006–1011.
62. Hauzeur JP, Pasteels JL, Orloff S. Bilateral nontraumatic aseptic osteonecrosis in the femoral head: an experimental study of incidence. *J Bone Joint Surg Am* 1987;69(8):1221–1225.
63. Stevens K, Tao C, Lee SU, et al. Subchondral fractures in osteonecrosis of the femoral head: comparison of radiography, CT, and MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2003;180(2):363–368.
64. Beckmann J, Matsuura M, Grassel S, Köck F, Grifka J, Tingart MA. A  $\mu$ CT analysis of the femoral bone stock in osteonecrosis of the femoral head compared to osteoarthritis. *Arch Orthop Trauma Surg* 2009;129(4): 501–505.
65. Piyakunmala K, Sangkomkamhang T, Chareonchonvanitch K. Is magnetic resonance imaging necessary for normal plain radiography evaluation of contralateral non-traumatic asymptomatic femoral head in high osteonecrosis risk patient. *J Med Assoc Thai* 2009;92 (suppl 6):S147–S151.

66. Kamata N, Oshitani N, Sogawa M, et al. Usefulness of magnetic resonance imaging for detection of asymptomatic osteonecrosis of the femoral head in patients with inflammatory bowel disease on long-term corticosteroid treatment. *Scand J Gastroenterol* 2008;43(3): 308–313.
67. Sen RK, Tripathy SK, Aggarwal S, Marwaha N, Sharma RR, Khandelwal N. Early results of core decompression and autologous bone marrow mononuclear cells instillation in femoral head osteonecrosis: a randomized control study. *J Arthroplasty* 2012;27(5): 679–686.
67. Jiang CC, Shih TT. Epiphyseal scar of the femoral head: risk factor of osteonecrosis. *Radiology* 1994;191 (2):409–412.
68. Brody AS, Strong M, Babikian G, Sweet DE, Seidel FG, Kuhn JP. John Caffey Award paper. Avascular necrosis: early MR imaging and histologic findings in a canine model. *AJR Am J Roentgenol* 1991;157(2): 341–345.
69. Mitchell DG, Rao VM, Dalinka MK, et al. Femoral head avascular necrosis: correlation of MR imaging, radiographic staging, radionuclide imaging, and clinical findings. *Radiology* 1987;162(3):709–715.
70. Nadel SN, Debatin JF, Richardson WJ, et al. Detection of acute avascular necrosis of the femoral head in dogs: dynamic contrast-enhanced MR imaging vs spin-echo and STIR sequences. *AJR Am J Roentgenol* 1992;159 (6):1255–1261.
71. Kaushik A, Sankaran B, Varghese M. Prognostic value of dynamic MRI in assessing post-traumatic femoral head vascularity. *Skeletal Radiol* 2009;38(6):565–569.
72. Catto M. A histological study of avascular necrosis of the femoral head after transcervical fracture. *J Bone Joint Surg Br* 1965;47(4):749–776.
73. Yamamoto S, Watanabe A, Nakamura J, et al. Quantitative T2 mapping of femoral head cartilage in systemic lupus erythematosus patients with noncollapsed osteonecrosis of the femoral head associated with corticosteroid therapy. *J Magn Reson Imaging* 2011;34(5): 1151–1158.
74. Ficat RP, Arlet J. Functional investigation of bone under normal conditions. En: Hungerford DS, editor. *Ischemia and necrosis of bone*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1980. p. 29-52.
75. Gardeniers JW. A new international classification of osteonecrosis of the ARCO-committee on terminology and classification. *ARCO News*. 1992;4:41-6.
76. Nam KW, Kim YL, Yoo JJ, Koo KH, Yoon KS, Kim HJ. Fate of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2008;90(3): 477–484.
77. Shimizu K, Moriya H, Akita T, Sakamoto M, Suguro T. Prediction of collapse with magnetic resonance imaging of avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76(2):215–223.
78. Ha AS, Wells L, Jaramillo D. Importance of sagittal MR imaging in nontraumatic femoral head osteonecrosis in children. *Pediatr Radiol* 2008;38(11):1195–1200.
79. Zhao FC, Li ZR, Zhang NF, et al. Lesion size changes in osteonecrosis of the femoral head: a long-term prospective study using MRI. *Int Orthop* 2010;34(6): 799–804.
80. <https://orthoinfo.aaos.org/en/diseases--conditions/osteonecrosis-of-the-hip>
81. Nakamura J, Harada Y, Oinuma K, Iida S, Kishida S, Takahashi K. Spontaneous repair in asymptomatic osteonecrosis associated with corticosteroid therapy in systemic lupus erythematosus: 10 years minimum follow-up with MRI. *Lupus* 2010;19:1307-14.

82. Nam KW, Kim YL, Yoo JJ, Koo KH, Yoon KS, Kim JH. Fate of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2008;90A:477-84.
83. Hernigou P, Poignard A, Nogier A, Manicom O. Fate of very small asymptomatic stage-1 osteonecrosis lesions of the hip. *J Bone Joint Surg Am* 20
84. Mont MA, Jones LC, Hungerford DS. Non traumatic osteonecrosis of the femoral head: ten years later. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:1117-32.
85. Wang C, Peng J, Lu SB. Summary of various treatments for osteonecrosis of the femoral head by mechanism: a review. *Exp Ther Med* 2014;8:700-6.
86. Cao H, Guan, Lai Y, Qin L, Wang X. Review of various treatment options and potential therapies for osteonecrosis of femoral head. *Journal Orthopaedic Translation* 2016;4:57-70.
87. Parsons SJ, Steele N. Osteonecrosis of the femoral head: Part 2. Options for treatments. *Curr Orthopaed* 2008;22:349-58.
88. Mont MA, Carbone JJ, Fairbank AC. Core decompression versus nonoperative management for osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res* 1996;324:169-78.
89. Pritchett JW (2001) Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. *Clin Orthop Relat Res* 173-8.
90. Cui Q, Wang GJ, Su CC, Balian G (1997) The Otto Aufranc Award. Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 8-19.
91. Zhang G, Qin L, Sheng H, Yeung KW, Yeung HY, Cheung WH, Griffith J, Chan CW, Lee KM, Leung KS (2007) Epimedium-derived phytoestrogen exert beneficial effect on preventing steroid-associated osteonecrosis in rabbits with inhibition of both thrombosis and lipid-deposition. *Bone* 40: 685-92.
92. Nishida K, Yamamoto T, Motomura G, Jingushi S, Iwamoto Y (2008) Pitavastatin may reduce risk of steroid-induced osteonecrosis in rabbits: a preliminary histological study. *Clin Orthop Relat Res* 466: 1054-8.
93. Arlet J MTMVG (1990) The effect of IV injection of naftidrofuryl (praxilene) in patients with osteonecrosis of the femoral head. in: J. Arlet, B. Mazieres, editors: *Bone circulation and bone necrosis*. Heidelberg: Springer-Verlag, 405-406.
94. Tagil M, Astrand J, Westman L, Aspenberg P (2004) Alendronate prevents collapse in mechanically loaded osteochondral grafts: a bone chamber study in rats. *Acta Orthop Scand* 75: 756-61.
95. Agarwala S, Sule A, Pai BU, Joshi VR (2001) Study of alendronate in avascular necrosis of bone. *J Assoc Physicians India* 49: 949-50.
96. Glueck CJ, Freiberg RA, Sieve L, Wang P (2005) Enoxaparin prevents progression of stages I and II osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res* 164-70.
97. Glueck CJ, Freiberg R, Glueck HI, Tracy T, Stroop D, Wang Y (1995) Idiopathic osteonecrosis, hypofibrinolysis, high plasminogen activator inhibitor, high lipoprotein(a), and therapy with Stanozolol. *Am J Hematol* 48: 213-20.
98. Aigner N, Petje G, Schneider W, Krasny C, Grill F, Landsiedl F (2002) Juvenile bone-marrow oedema of the acetabulum treated by iloprost. *J Bone Joint Surg Br* 84: 1050-2.

99. Massari L, Fini M, Cadossi R, Setti S, Traina GC (2006) Biophysical stimulation with pulsed electromagnetic fields in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 88 Suppl 3: 56-60.
100. Ludwig J, Lauber S, Lauber HJ, Dreisilker U, Raedel R, Hotzinger H (2001) High energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults. *Clin Orthop Relat Res* 119-26.
101. Lin PC, Wang CJ, Yang KD, Wang FS, Ko JY, Huang CC (2006) Extracorporeal shockwave treatment of osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus. *J Arthroplasty* 21: 911-5.
102. Wang CJ, Wang FS, Huang CC, Yang KD, Weng LH, Huang HY (2005) Treatment for osteonecrosis of the femoral head: comparison of extracorporeal shock waves with core decompression and bone-grafting. *J Bone Joint Surg Am* 87: 2380-7.
103. Reis ND, Schwartz O, Militianu D, Ramon Y, Levin D, Norman D, Melamed Y, Shupak A, Goldsher D, Zinman C (2003) Hyperbaric oxygen therapy as a treatment for stage-I avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br* 85: 371-5.
104. Peskin B, Shupak A, Levin D, Norman D, Jacob Z, Boss JF, Misselevich I, Reis DN, Zinman C (2001) Effects of non-weight bearing and hyperbaric oxygen therapy in vascular deprivation-induced osteonecrosis of the rat femoral head. *Undersea Hyperb Med* 28: 187-94.
105. Strauss M (1995;) A meta-analysis and economic appraisal of osteonecrosis of the femoral head treated with hiperbaric oxygen. *ARCO news* 7:110.
106. Mont MA, Ragland PS, Etienne G. Core descompression of the femoral head for osteonecrosis using percutaneous multiple small-diameter drilling. *Clinic Orthop Relat Res* 2004;429:131-8
107. Lieberman JR. Core descompression for osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res* 2004;418:29-33.
108. Floerkemeier T, Lutz A, Nackenhorst U, Thorey F, Waizy H, Windhagen H, et al. Core descompression and osteonecrosis intervention rod in osteonecrosis of the femoral head: clinical outcome and finite element analysis. *Int Orthop* 2011;35:1461-6.
109. Wei BF, Ge XH. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with core descompression and bone grafting. *Hip Int* 2011;21:206-10.
110. Rossenwasser MP, Garino JP, Kierman HA, Michelsen CB. Long-term follow-up of thorough debridement and cancellous bone grafting of the femoral head of avascular necrosis. *Clinic Orthop Relat Res* 1994;306:17-27.
111. Stevansson S, Shaffer JW, Goldberg VM. The humoral response to vascular and nonvascular allografts of bone. *Clinic Orthop Relat Res* 1996;86-95.
112. Korageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 2005;26:5474-91.
113. Svehla M, Morberg P, Zicat B, Bruce W, Sonnabend B, Walsh WR. Morphometric and mechanical evaluation of titanium implant integration: comparison of five surface structures. *J Biomed Mater Res* 2000;51:15-22.
114. Wang GJ, Dughman SS, Reger SI, Stamp WG. The effect of core descompression on femoral head blood flow in steroid-induced avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1985;67A:121-4.

115. Tang J, Wang JL, Xie XH, Zhang P, Lai YX, Li YD, et al. Surface coating reduces degradation rates of magnesium alloy developed for orthopaedic applications. *J Orthop Transl* 2013;1:41-8.

116. <http://www.wright.com/healthcare-professionals/pro-dense-graft-home/advanced-core-decompression-system>

117. Ha YC, Kim HJ, Kim SY, Lee YK, Koo KH. Effects of age and body mass index on the results of transtrochanteric rotational osteotomy for femoral head osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Am* 2011;93A:75-84.

118. Shannon BD, Trousdale RT. Femoral osteotomies for avascular necrosis of the femoral head. *Clinic Orthop Relat Res* 2004;418:34-40.

119. Yasunaga Y, Hisatome T, Ikuta Y, Nakamura S. A histological study of the necrosis area after transtrochanteric anterior rotational osteotomy for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br* 2001;83B:167-70.

120. Dean MT, Cabanela ME. Transtrochanteric anterior rotational osteotomy for avascular necrosis of the femoral head. Long term results. *J Bone Joint Surg Br* 1993;75:597-601.

121. Hiranuma Y, Atsumi T, Kajwara T, Tamaoki S, Asakura Y. Evaluation of instability after transtrochanteric anterior rotational osteotomy for nontraumatic osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Sci* 2009;14:535-42.

122. Mont MA, Rajadhyaska AD, Hungerford DS. Outcomes of limited femoral resurfacing arthroplasty compared with total hip arthroplasty for osteonecrosis of femoral head. *J. Arthroplasty* 2001;16:134-9.

123. Squire M, Fehring TK, Odum S, Griffin WL, Bohannon Mason J. Failure of femoral surface replacing for femoral head avascular necrosis. *J Arthroplasty* 2005;20:108-14.

124. Bose VC, Baruah BD. Resurfacing arthroplasty of the hip for avascular necrosis of the femoral head a minimum follow-up of four years. *J Bone Joint Surg Br* 2010;92B:922-8.

125. Hammond LC, Lin EC, Harwood DP, Juhan TW, Gouchanour E, Klosterman EL, et al. Clinical outcomes of hemiarthroplasty and biological resurfacing in patients aged younger than 50 years. *J Shoulder Elbow Surg* 2013;22:1345-51.

126. Beaulé P, Campbell PA, Hoke R, Dorey F. Notching of the femoral head during resurfacing arthroplasty of the hip: a vascular study. *J Bone Joint Surg Br* 2006;88B:35-9.

127. Lee SB, Sugano N, Nakata K, Matsui M, Ohzono K. Comparison between bipolar hemiarthroplasty and THA for osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res* 2004;161-5.

128. <https://www.igb.es/reumatologia/cadera/artroplastia%20de%20recubrimiento.htm>

129. Rodman GD. Treatment strategies for bone disease. *Bone marrow transpl* 2007;40:1139-46.

130. <http://isanidad.com/51679/los-pacientes-con-reemplazo-total-de-cadera-tienen-mejores-sensaciones-que-los-de-rodilla-o-tobillo/>

131. Wang Y, Han ZB, Song YP, Han ZC. Safety of mesenchymal stem cells for clinical application. *Stem Cells Int.* 2012;2012:652034 Epub 2012/06/12.

132. Brederlau A, Correia AS, Anisimov SV, Elmi M, Paul G, Roybon L, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cells to a rat model of Parkinson's disease: effect of in vitro differentiation on graft survival and
133. Hernigou P, Beaujean F. Abnormalities in the bone marrow of the iliac crest in patients who have osteonecrosis secondary to corticosteroid therapy or alcohol abuse. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79: 1047–53.
134. Hernigou P, Beaujean F, Lambotte JC. Decrease in the mesenchymal stem-cell pool in the proximal femur in corticosteroid-induced osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Br* 1999; 81: 349–55
135. Papakostidis C, Tosounidis TH, Jones E et al. The role of “cell therapy” in osteonecrosis of the femoral head. A systematic review of the literature and meta-analysis of 7 studies. *Acta Orthop* 2016 Feb; 87: 72–8.
136. Hernigou P, Trousselier M, Roubineau F et al. Stem cell therapy for the treatment of hip osteonecrosis: a 30-year review of progress. *Clin Orthop Surg* 2016 Mar; 8: 1–8.
137. Murphy MB, Moncivais K, Caplan AI. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Exp Mol Med* 2013; 45: e54.
138. . Andriolo L, Merli G, Tobar C, Altamura SA, Kon E, Filardo G. Regenerative therapies increase survivorship of avascular necrosis of the femoral head: a systematic review and meta-analysis. *Int Orthop*. 2018;6 Epub 2018/02/08.
139. Wyles CC, Houdek MT, Crespo-Diaz RJ, Norambuena GA, Stalboerger PG, Terzic A, et al. Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells Are Phenotypically Superior for Regeneration in the Setting of Osteonecrosis of the Femoral Head. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(10):3080–90 Epub 2015/06/14.
140. Houdek MT, Wyles CC, Packard BD, Terzic A, Behfar A, Sierra RJ. Decreased Osteogenic Activity of Mesenchymal Stem Cells in Patients With Corticosteroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head. *J Arthroplast*. 2016;31(4):893–8 Epub 2015/09/26.
141. Hernigou P, Homma Y, Flouzat Lachaniette CH et al. Benefits of small volume and small syringe for bone marrow aspirations of mesenchymal stem cells. *Int Orthop* 2013; 37: 2279–87
142. Pepke W, Kasten P, Beckmann NA, Janicki P, Egermann M. Core Decompression and Autologous Bone Marrow Concentrate for Treatment of Femoral Head Osteonecrosis: A Randomized Prospective Study. *Orthop Rev (Pavia)*. 2016;8(1):6162 Epub 2016/04/27.
143. Gianakos AL, Moya-Angeler J, Duggal S, Zambrana L, Fields KG, Mintz DN, et al. The Efficacy of Bisphosphonates with Core Decompression and Mesenchymal Stem Cells Compared with Bisphosphonates Alone in the Treatment of Osteonecrosis of the Hip: a Retrospective Study. *HSS J*. 2016; 12(2):137–44 Epub 2016/07/08.
144. Hernigou P, Beaujean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;(405):14-23.
145. C. Hao, S. Yang, W. Xu et al., “MiR-708 promotes steroid-induced osteonecrosis of femoral head, suppresses osteogenic differentiation by targeting SMAD3,” *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, article 22599, 2016.
146. Guadilla J, Fiz N, Andia I, Sa´nchez M. Arthroscopic management and platelet-rich plasma therapy for avascular necrosis of the hip. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012; 20: 393–8.

147. Eric Larson, Lynne C. Jones, Stuart B. Goodman, Kyung-Hoi Koo, Quanjun Cui. Early-stage osteonecrosis of the femoral head: where are we and where are we going in year 2018? *International Orthopaedics* (2018) 42:1723–1728
148. Hauzeur JP, De Maertelaer V, Baudoux E, Malaise M, Beguin Y, Gangji V. Inefficacy of autologous bone marrow concentrate in stage three osteonecrosis: a randomized controlled double-blind trial. *Int Orthop*. 2017; 7:1429–35 Epub 2017/10/11.
149. Sen RK, Tripathy SK, Aggarwal S, Marwaha N, Sharma RR, Khandelwal N. Early results of core decompression and autologous bone marrow mononuclear cells instillation in femoral head osteonecrosis: a randomized control study. *J Arthroplast*. 2012;27(5):679–86 Epub 2011/10/18
150. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Pierce J, Harris DT. Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation. *J Transl Med*. 2014;12:8 Epub 2014/01/09.
151. . Aksu AE, Rubin JP, Dudas JR, Marra KG. Role of gender and anatomical region on induction of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. *Ann Plast Surg*. 2008;60(3):306–22 Epub 2008/04/30.
152. Cai J, Wu Z, Huang L, Chen J, Wu C, Wang S, et al. Cotransplantation of bone marrow mononuclear cells and umbilical cord mesenchymal stemcells in avascular necrosis of the femoral head. *Transplant Proc*. 2014;46(1): 151–5 Epub 2014/02/11.
153. Mao Q, Wang W, Xu T, Zhang S, Xiao L, Chen D, et al. Combination treatment of biomechanical support and targeted intra-arterial infusion of peripheral blood stem cells mobilized by granulocyte-colony stimulating factor for the osteonecrosis of the femoral head: a randomized controlled clinical trial. *J Bone Miner Res*. 2015;30(4):647–56 Epub 2014/10/29.
- 154: G. C. Daltro, V. Fortuna, E. S. de Souza et al., “Efficacy of autologous stem cell-based therapy for osteonecrosis of the femoral head in sickle cell disease: a five-year follow-up study,” *Stem Cell Research & Therapy*, vol. 6, no. 1, p. 110, 2015.
155. M.T.Houdek, C.C. Wyles, B.D.Packard, A.Terzic ,A.Behfar, and R. J. Sierra, “Decreased osteogenic activity of mesenchymal stem cells in patients with corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head,” *The Journal of Arthroplasty*, vol. 31, no. 4, pp. 893–898, 2016.
156. C. Chen, S. Yang, Y. Feng et al., “Impairment of two types of circulating endothelial progenitor cells in patients with glucocorticoid-induced avascular osteonecrosis of the femoral head,” *Joint, Bone, Spine*, vol. 80, no. 1, pp. 70–76, 2013.
157. C. Gillet, A. Dalla Valle, N. Gaspard et al., “Osteonecrosis of the femoral head: lipotoxicity exacerbation in MSC and modifications of the bone marrow fluid,” *Endocrinology*, vol. 158, no. 3, pp. 490–502, 2017.
158. H. Liao, Z. Zhong, Z. Liu, L. Li, Z. Ling, and X. Zou, “Bone mesenchymal stem cells co-expressing VEGF and BMP-6 genes to combat avascular necrosis of the femoral head,” *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol. 15, no. 1, pp. 954–962, 2018.
159. H. X. Zhang, X. P. Zhang, G. Y. Xiao et al., “In vitro and in vivo evaluation of calcium phosphate composite scaffolds containing BMP-VEGF loaded PLGA microspheres for the treatment of avascular necrosis of the femoral head,” *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, vol. 60, pp. 298–307, 2016.
160. L. Qin, D. Yao, L. Zheng et al., “Phytomolecule icaritin incorporated PLGA/TCP scaffold for steroid-associated osteonecrosis: proof-of-concept for prevention of hip joint collapse in bipedal emus and mechanistic study in quadrupedal rabbits,” *Biomaterials*, vol. 59, pp. 125–143, 2015.



161. D. Zhao, B. Liu, B. Wang et al., "Autologous bone marrow mesenchymal stem cells associated with tantalum rod implantation and vascularized iliac grafting for the treatment of end-stage osteonecrosis of the femoral head," *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 240506, 9 pages, 2015.
162. M. Xu and D. Peng, "Mesenchymal stem cells cultured on tantalum used in early-stage avascular necrosis of the femoral head," *Medical Hypotheses*, vol. 76, no. 2, pp. 199-200, 2011.
163. P. Kang, X. Xie, Z. Tan et al., "Repairing defect and preventing collapse of femoral head in a steroid-induced osteonecrotic of femoral head animal model using strontium-doped calcium polyphosphate combined BM-MNCs," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 26, no. 2, p. 80, 2015.
164. T. Aoyama, K. Goto, R. Kakinoki et al., "An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts," *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, vol. 20, no. 4, pp. 233-242, 2014.
165. J. Peng, C. Wen, A. Wang et al., "Micro-CT-based bone ceramic scaffolding and its performance after seeding with mesenchymal stem cells for repair of load-bearing bone defect in canine femoral head," *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, vol. 96B, no. 2, pp. 316-325, 2011.
166. W. X. Peng and L. Wang, "Adenovirus-mediated expression of BMP-2 and BFGF in bone marrow mesenchymal stem cells combined with demineralized bone matrix for repair of femoral head osteonecrosis in beagle dogs," *Cellular Physiology and Biochemistry*, vol. 43, no. 4, pp. 1648-1662, 2017.
167. A. L. Gianakos, J. Moya-Angeler, S. Duggal et al., "The efficacy of bisphosphonates with core decompression and mesenchymal stem cells compared with bisphosphonates alone in the treatment of osteonecrosis of the hip: a retrospective study," *HSS Journal*, vol. 12, no. 2, pp. 137-144, 2016.
168. G. M. Calori, E. Mazza, M. Colombo, S. Mazzola, G. V. Mineo, and P. V. Giannoudis, "Treatment of AVN using the induction chamber technique and a biological-based approach: indications and clinical results," *Injury*, vol. 45, no. 2, pp. 369-373, 2014.
169. Y. Ma, T. Wang, J. Liao et al., "Efficacy of autologous bone marrow buffy coat grafting combined with core decompression in patients with avascular necrosis of femoral head: a prospective, double-blinded, randomized, controlled study," *Stem Cell Research & Therapy*, vol. 5, no. 5, p. 115, 2014.
170. Q. Wen, C. Zhou, W. Luo, M. Zhou, and L. Ma, "Pro-osteogenic effects of fibrin glue in treatment of avascular necrosis of the femoral head in vivo by hepatocyte growth factor-transgenic mesenchymal stem cells," *Journal of Translational Medicine*, vol. 12, no. 1, p. 114, 2014.
171. A. E. Jakus, A. L. Rutz, S. W. Jordan et al., "Hyperelastic "bone": a highly versatile, growth factor-free, osteoregenerative, scalable, and surgically friendly biomaterial," *Science Translational Medicine*, vol. 8, no. 358, p. 358ra127, 2016.
172. A. M. Pobloth, S. Checa, H. Razi et al., "Mechanobiologically optimized 3D titanium-mesh scaffolds enhance bone regeneration in critical segmental defects in sheep," *Science Translational Medicine*, vol. 10, no. 423, p. eaam8828, 2018.
173. C. Li, G. Li, M. Liu, T. Zhou, and H. Zhou, "Paracrine effect of inflammatory cytokine-activated bone marrow mesenchymal stem cells and its role in osteoblast function," *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 121, no. 2, pp. 213-219, 2016.

174. Z. B. Sun, J. W. Wang, H. Xiao et al., "Icariin may benefit the mesenchymal stem cells of patients with steroid-associated osteonecrosis by ABCB1-promoter demethylation: a preliminary study," *Osteoporosis International*, vol. 26, no. 1, pp. 187–197, 2015.
175. D. Hang, Q. Wang, C. Guo, Z. Chen, and Z. Yan, "Treatment of osteonecrosis of the femoral head with VEGF165 transgenic bone marrow mesenchymal stem cells in mongrel dogs," *Cells Tissues Organs*, vol. 195, no. 6, pp. 495–506, 2012.
176. Y. B. Jia, D. M. Jiang, Y. Z. Ren, Z. H. Liang, Z. Q. Zhao, and Y. X. Wang, "Inhibitory effects of vitamin E on osteocyte apoptosis and DNA oxidative damage in bone marrow hemopoietic cells at early stage of steroid-induced femoral head necrosis," *Molecular Medicine Reports*, vol. 15, no. 4, pp. 1585–1592, 2017.
177. J. Leotot, A. Lebouvier, P. Hernigou, P. Bierling, H. Rouard, and N. Chevallier, "Bone-forming capacity and biodistribution of bone marrow-derived stromal cells directly loaded into scaffolds: a novel and easy approach for clinical application of bone regeneration," *Cell Transplantation*, vol. 24, no. 10, pp. 1945–1955, 2015.
178. Q. Wen, L. Zhou, C. Zhou, M. Zhou, W. Luo, and L. Ma, "Change in hepatocyte growth factor concentration promote mesenchymal stem cell-mediated osteogenic regeneration," *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, vol. 16, no. 6, pp. 1260–1273, 2012.
179. X. Wu, S. Yang, H. Wang et al., "G-CSF/SCF exert beneficial effects via anti-apoptosis in rabbits with steroid-associated osteonecrosis," *Experimental and Molecular Pathology*, vol. 94, no. 1, pp. 247–254, 2013.
180. N.Han,Z.Li,Z.Cai,Z.Yan,Y.Hua,andC.Xu,"P-glycoprotein overexpression in bone marrow-derived multipotent stromal cells decreases the risk of steroid-induced osteonecrosisinthefemoralhead,"*JournalofCellular andMolecular Medicine*, vol. 20, no. 11, pp. 2173–2182, 2016.
181. Z. Yu, L. Fan, J. Li, Z. Ge, X. Dang, and K. Wang, "Lithium chloride attenuates the abnormal osteogenic/adipogenic differentiationofbonemarrow-derivedmesenchymalstemcells obtained from rats with steroid-related osteonecrosis by activating the  $\beta$ -catenin pathway," *International Journal of Molecular Medicine*, vol. 36, no. 5, pp. 1264–1272, 2015.
182. F. Mwale, H. Wang, A. J. Johnson, M. A. Mont, and J. Antoniou, "Abnormal vascular endothelial growth factor expression in mesenchymal stem cells from both osteonecrotic and osteoarthritic hips," *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, vol. 69, Supplement 1, pp. S56–861, 2011.
183. J. Leotot, A. Lebouvier, P. Hernigou, P. Bierling, H. Rouard, and N. Chevallier, "Bone-forming capacity and biodistribution of bone marrow-derived stromal cells directly loaded into scaffolds: a novel and easy approach for clinical application of bone regeneration," *Cell Transplantation*, vol. 24, no. 10, pp. 1945–1955, 2015.
184. Y. B. Jia, D. M. Jiang, Y. Z. Ren, Z. H. Liang, Z. Q. Zhao, and Y. X. Wang, "Inhibitory effects of vitamin E on osteocyte apoptosis and DNA oxidative damage in bone marrow hemopoietic cells at early stage of steroid-induced femoral head necrosis," *Molecular Medicine Reports*, vol. 15, no. 4, pp. 1585–1592, 2017.
185. A. Aimaiti, Y. Saiwulaiti, M. Saiyiti, Y. H. Wang, L. Cui, and A. Yusufu, "Therapeutic effect of osteogenically inducedadipose derived stem cells on vascular deprivation-induced osteonecrosisofthefemoralheadinrabbits,"*ChineseJournal of Traumatology*, vol. 14, no. 4, pp. 215–220, 2011.
186. Y. Otsuki, M. Ii, K. Moriwaki, M. Okada, K. Ueda, and M. Asahi, "W9 peptide enhanced osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 495, no. 1, pp. 904–910, 2018.

187. H. J. Wang, B. Cai, X. Y. Zhao et al., "Repairing diabetic rats with bonedefect by VEGF165 gene modified adipose-derived stem cells," *Zhongguo Gu Shang*, vol. 30, no. 6, pp. 545–551, 2017.
188. W. You, K. Wang, D. Duan, C. Wang, L. Fan, and R. Liu, "Construction of lentiviral vector containing Homo sapiens forkhead box C2 gene and its expression in bone marrow mesenchymal stem cells of rabbits," *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, vol. 27, no. 5, pp. 535–540, 2013.
189. Q. Wen, D. Jin, C. Y. Zhou, M. Q. Zhou, W. Luo, and L. Ma, "HGF-transgenic MSCs can improve the effects of tissue self-repair in a rabbit model of traumatic osteonecrosis of the femoral head," *PLoS One*, vol. 7, no. 5, article e37503, 2012.
190. C. Hao, S. Yang, W. Xu et al., "MiR-708 promotes steroid-induced osteonecrosis of femoral head, suppresses osteogenic differentiation by targeting SMAD3," *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, article 22599, 2016.
191. H. F. Yuan, V. R. Christina, C. A. Guo, Y. W. Chu, R. H. Liu, and Z. Q. Yan, "Involvement of microRNA-210 demethylation in steroid-associated osteonecrosis of the femoral head," *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, article 20046, 2016.
192. J. Jia, X. Feng, W. Xu et al., "MiR-17-5p modulates osteoblastic differentiation and cell proliferation by targeting SMAD7 in non-traumatic osteonecrosis," *Experimental & Molecular Medicine*, vol. 46, no. 7, article e107, 2014.
193. J. Hu, Z. Wang, Y. Shan, Y. Pan, J. Ma, and L. Jia, "Long non-coding RNA HOTAIR promotes osteoarthritis progression via miR-17-5p/FUT2/ $\beta$ -catenin axis," *Cell Death & Disease*, vol. 9, no. 7, p. 711, 2018.
194. Urist, M.R., Bone: formation by autoinduction. *Science*, 1965. 150(3698): p. 893-9.
195. Zhang, J. and L. Li, BMP signaling and stem cell regulation. *Dev Biol*, 2005. 284(1): p. 1-11.
196. Eyckmans, J., Roberts, S. J., Schrooten, J., & Luyten, F. P. (2009). A clinically relevant model of osteoinduction: a process requiring calcium phosphate and BMP/Wnt signalling. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(6b), 1845–1856.
197. Chen, D., M. Zhao, and G.R. Mundy, Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors*, 2004. 22(4): p. 233-41.
198. Bose Susmita, R.M.a.B.A., Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Cell press*, 2012. 30(10): p. 546-554.
199. Dimitriou, R., et al., Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med*, 2011. 9: p. 66.
200. Aoyama T, Goto K, Kakinoki R, Ikeguchi R, Ueda M, Kasai Y, et al. An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts. *Tissue Eng B Rev*. 2014;20(4):233–42 Epub 2014/03/07.
201. J. Santelli, S. Lechevallier, H. Baaziz et al., "Multimodal gadolinium oxysulfide nanoparticles: a versatile contrast agent for mesenchymal stem cell labeling," *Nanoscale*, vol. 10, no. 35, pp. 16775–16786, 2018.

