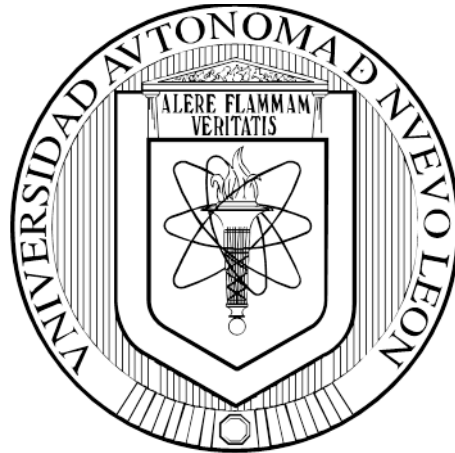


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**EFFECTOS DE LA INFILTRACIÓN DE CÉLULAS CD34+ AUTÓLOGAS DE
MÉDULA ÓSEA NO CRIOPRESERVADAS EN OSTEOARTROSIS DE
RODILLA**

POR

M.C.P. DOMINGO GARAY MENDOZA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO
DE DOCTOR EN MEDICINA**

MARZO, 2018

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**EFFECTOS DE LA INFILTRACIÓN DE CÉLULAS CD34+ AUTÓLOGAS DE
MÉDULA ÓSEA NO CRIOPRESERVADAS EN OSTEOARTROSIS DE
RODILLA**

POR

M.C.P. DOMINGO GARAY MENDOZA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO
DE DOCTOR EN MEDICINA**

MARZO, 2018

**EFFECTOS DE LA INFILTRACIÓN DE CÉLULAS CD34+ AUTÓLOGAS DE
MÉDULA ÓSEA NO CRIOPRESERVADAS EN OSTEOARTROSIS DE
RODILLA**

Aprobación de la tesis:

**Dr. Med. Carlos Alberto Acosta Olivo
Director de la tesis**

**Dr. Med. José Félix Vélchez Cavazos
Co-Director**

**Dr. Med. Victor Manuel Peña Martínez
Miembro**

**Dr. Med. Tomas Ramos Morales
Miembro**

**Dra. Med. Laura Elia Martínez Garza
Miembro**

**Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado**

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Dedico especialmente esta obra a mi esposa Dra. Laura Villarreal Martínez ya que sin su ayuda hubiera sido imposible la realización de este trabajo. También, para mis asesores Dr. Carlos A. Acosta Olivo y Dr. José Félix Vílchez Cavazos ya que su asesoría fue fundamental. Finalmente, agradezco a los pacientes del Hospital Universitario que son el objetivo final de esta investigación.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO	PÁGINA
Capítulo I	
1. RESUMEN	1
 Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN	3
 Capítulo III	
3. HIPÓTESIS	22
 Capítulo IV	
4. OBJETIVOS	23
 Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS	25
 Capítulo VI	
6. RESULTADOS	31
 Capítulo VII	
7. DISCUSIÓN	35

Capítulo VIII	
8. CONCLUSIÓN	39
Capítulo IX	
9. ANEXOS	40
Capítulo X	
10. BIBLIOGRAFÍA	45
Capítulo XI	
11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	59

LISTA DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1. Tabla 1	31
2. Tabla 2	32

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Figura 1	11
2. Figura 2	33
3. Figura 3	33

LISTA DE ABREVIATURAS

OA: Osteoartrosis

CM: Células Madre

G-CSF: Factor Estimulador de Granulocitos

AINE: Antiinflamatorios No Esteroideos

EVA: Escala Visual Análoga

WOMAC: Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index

IMC: índice de Masa Corporal.

MG: Miligramos

MCG o μM : Microgramos

ML: Mililitros

KG: Kilogramos

CAPÍTULO I

RESUMEN

Objetivo

El manejo de la osteoartrosis (OA) es básicamente sintomático. Recientemente, las células madre (CM) han sido utilizadas en la búsqueda de un tratamiento óptimo. El presente estudio es un ensayo clínico controlado para determinar si una inyección intra-articular de células madre de médula ósea estimuladas “in vivo” pudieran llevar a una mejoría en el manejo del dolor y mejorar la calidad de vida de los pacientes con OA.

Metodología

Estudio prospectivo, abierto, fase I/II para asegurar la seguridad y eficacia de una inyección intra-articular de células madre de médula ósea en pacientes con OA. Individuos de ambos sexos, mayores de 30 años con diagnóstico confirmado de OA de rodilla grado II y III según la clasificación radiológica de Kellgren y Lawrence y que firmaron el consentimiento informado fueron incluidos. Así mismo, se dividieron en dos grupos: un grupo control que recibió paracetamol 500 mg cada 8 horas, y un grupo experimental, al cual se le aplicaron células

madre de forma intra-articular en la rodilla afectada. El grupo de las células madre recibieron estimulación “in vivo” con administración de factor estimulador de granulocitos (G - CSF).

Las células madre fueron obtenidas por medio de una aspiración de médula ósea y administradas por medio de una inyección única intra-articular. El grupo control recibió exclusivamente paracetamol. Se realizaron evaluaciones por medio de la escala visual análoga y el WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index) al inicio, a la semana, al mes y a los seis meses. Este estudio fue registrado en ClinicalTrials.gov NCT01485198.

Resultados

Se incluyeron un total de 61 pacientes. Las características sociodemográficas, grados de OA, y puntajes iniciales fueron similares en ambos grupos. El grupo de células madre presentó mejoría significativa en el dolor de la rodilla y en la calidad de vida durante el seguimiento a seis meses.

Conclusión

Este estudio demuestra la factibilidad y soporta la eficacia de un procedimiento completamente ambulatorio en el tratamiento de los pacientes con OA.

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN

2.1 Osteoartrosis de rodilla

Antecedentes

La osteoartrosis (OA) es la forma más común de artritis y posee una variada expresión de la enfermedad. La mayoría de los pacientes se presentan con dolor articular y limitación funcional. La edad de inicio de los síntomas, la secuencia de involucro articular y la progresión de la enfermedad puede variar de una persona a otra. La OA puede ser asintomática, encontrarse como hallazgo incidental en examen clínico o radiológico, o manifestarse como una enfermedad rápidamente progresiva con disfunción articular. (1)

Incidencia

La osteoartrosis (OA) es una enfermedad crónico-degenerativa, dolorosa y discapacitante que afecta millones de pacientes en el mundo. Es la forma más

común de enfermedad musculoesquelética con una incidencia de hasta el 15% en la población mayor de 60 años a nivel mundial. Se afectan principalmente las articulaciones de carga, siendo la rodilla la más frecuente. (2)

La OA resulta de una interacción compleja de diversos factores tales como la edad, ocupación, trauma repetitivo y pequeñas lesiones durante la vida. Estas asociaciones son mayores para OA de rodilla y mano, siendo menos relacionada la cadera. Ocasionalmente las condiciones hereditarias pudieran predisponer al desarrollo de OA. (3)

La edad y el sexo son factores de riesgo importantes para desarrollar OA. La edad avanzada es uno de los factores de riesgo mejor establecidos. Así mismo, numerosos estudios han demostrado que el sexo femenino se asocia a un riesgo relativo incrementado a casi 2.6 posterior al ajuste de edad, peso y tabaquismo. Los estudios en mujeres además han encontrado que el incremento en la masa ósea se asocia con un mayor riesgo de desarrollar OA de cadera y han demostrado una relación inversa entre la terapia de reemplazo hormonal por largo tiempo y el desarrollo de OA. (4,5)

La obesidad es el principal factor de riesgo modificable para el desarrollo de OA, sin embargo, el riesgo varía dependiendo de la articulación implicada. La asociación es mayor para rodillas y manos, pero menos consistente para la cadera. Es habitual que una ligera disminución en el peso corporal mejore los síntomas.

La actividad física relacionada a la ocupación y deportes afectan el riesgo de desarrollar OA, así como las lesiones previas y la fuerza muscular. Los mecanismos para la asociación entre el tipo de trabajo y la OA de rodillas y manos incluyen sobrecarga a la articulación y daño repetitivo durante mucho tiempo. (6,7)

Los factores genéticos han sido implicados en el desarrollo de la OA. Las enfermedades metabólicas hereditarias y adquiridas, particularmente las relacionadas con depósito de calcio pudieran tener influencia en el desarrollo de OA, incluyendo enfermedades de cristales de calcio, condrocalcinosis familiar, acromegalia, entre otros trastornos. (8,9)

Fisiopatología

La OA ha sido considerada como una enfermedad degenerativa con escasas repercusiones a la salud y por ellos ha sido erróneamente llamada enfermedad degenerativa articular. Sin embargo, la patogénesis de la OA es realmente compleja ya que involucra un proceso inflamatorio. (10,11)

Es una de las causas más comunes de discapacidad crónica en adultos debido al dolor y las alteraciones de la función articular asociadas a los cambios patológicos en los tejidos articulares. Los hallazgos patológicos en el cartílago articular, hueso, sinovial y tejidos blandos se presentan en diferentes grados en las personas con OA, sugiriendo una respuesta común de la articulación a una

variedad de insultos. Se han asociado diversos factores a la patogénesis de la OA. (12)

Aparentemente los factores proinflamatorios conllevan a la producción de enzimas proteolíticas responsables de la degradación de la matriz extracelular que resulta en la destrucción del tejido articular. A pesar de que la destrucción y la pérdida del cartílago articular es un componente central de la OA, todos los tejidos de la articulación son afectados de alguna manera, lo que indica que la OA es una enfermedad que afecta toda la articulación.

Además, los factores mecánicos desempeñan un papel clave en OA, el exceso de carga también estimula a las células del tejido articular a producir factores proinflamatorios y proteasas que median la destrucción del cartílago articular. (13)

Existen algunos mediadores potenciales de la OA que no son considerados proinflamatorios, pero promueven su desarrollo, ya sea por medio de la activación de las vías que estimulan la destrucción del cartílago articular o por las que inhiben a las células que reparan la matriz. (14)

Conforme se adquieren nuevos conocimientos respecto a los mecanismos que desencadenan la OA, los nuevos tratamientos están siendo desarrollados para que apunten hacia mediadores específicos que han sido relacionados con la enfermedad. (15)

Diagnóstico

El diagnóstico de OA es básicamente clínico con los signos y síntomas descritos a continuación:

- Dolor: el dolor en la OA empeora con el uso y se alivia con el reposo. Es el síntoma más frecuente y generalmente es progresivo a través de tres etapas: (16)
 - o Etapa 1.- Dolor agudo, se presenta cuando hay una lesión mecánica, eventualmente limita las actividades de alto impacto con un efecto moderado en la función.
 - o Etapa 2.- Dolor se torna más constante y comienza a afectar las actividades diarias. Puede haber episodios impredecibles de inflamación.
 - o Etapa 3.- Dolor constante que se agudiza por episodios impredecibles, intenso, resuelta en severas limitaciones a la función.

No todos los pacientes cursan por las tres etapas y la progresión del dolor puede incrementarse en cualquiera de ellas. Generalmente el dolor es peor al finalizar la tarde y durante la noche, pero también puede ser muy intenso en la mañana al iniciar a caminar. (17)

Puede haber dolor severo durante la noche, por lo que la OA puede interferir con el sueño. En algunas personas el dolor tiene características neuropáticas, se extiende por toda la articulación, y se asocia a parestesia.

Tales características se pueden asociar con fibromialgia. (18) El tejido periarticular doloroso se percibe lejos de la articulación, mientras que el dolor en OA es más usual y severo en la línea articular, excepto en las articulaciones proximales como la cadera y el hombro que pudieran tener el máximo dolor en la región distal a la articulación.

- Dolor a la palpación: cuando se encuentra sobre la línea articular, podría sugerir patología dentro de la articulación, sin embargo, si este dolor se detecta lejos de la misma, podría sugerir patología de tejidos blandos
- Limitación del movimiento: reducción en el rango del movimiento, igual para movimientos pasivos que para activos. Resulta por la formación de osteofitos marginales y engrosamiento de la cápsula articular, sin embargo, la hiperplasia sinovial y la efusión pudieran contribuir.
- Inflamación ósea: refleja remodelación del hueso y del cartílago en cualquier lado de la articulación, así como en los osteofitos marginales. Puede ser evidente inclusive en articulaciones pequeñas.
- Deformidad articular: signo de enfermedad avanzada.
- Inestabilidad: síntoma común en OA. Ocasionalmente las personas pueden tropezar y caer, pero usualmente sienten una aprehensión y falta de confianza para apoyar. Presentan debilidad muscular.

La rodilla es un importante sitio para desarrollo de OA y es la causa más común de discapacidad de miembros inferiores en adultos mayores de 50 años a nivel mundial. La OA de rodilla usualmente es bilateral, sin embargo, uno de los miembros es más severamente afectado. La articulación patelofemoral y/o la tibiofemoral medial son las más comúnmente afectadas. La localización del dolor pudiera indicar cuál es el compartimento articular afectado. Puede ser anteromedial o más generalizado en la articulación patelofemoral. (19)

El dolor de la OA patelofemoral se exagera por la posición sedente prolongada, pararse de una silla, subir escaleras o ponerse en cunclillas, generalmente es más doloroso bajar que subir. Un dolor más distribuido en la rodilla anterior con irradiación distal sugiere una OA de moderada a severa, mientras que si persiste en la noche e interrumpe el sueño o el descanso se trata de una OA avanzada. Usualmente no causa dolor en la rodilla posterior a menos que desarrollen un quiste de Baker. Los pacientes refieren que la rodilla se “les va” así como inestabilidad, ambas relacionadas a caídas.

Al examen físico se observan los hallazgos típicos y posibles deformidades (rodilla en flexión y/o varo, menos común valgo), debilidad de cuádriceps y del abductor de la cadera. La inflamación de la rodilla es común, usualmente leve o moderada y se incrementa con la severidad de la enfermedad. (20)

Cuando el diagnóstico es incierto o existen alternativas diagnósticas a considerar, existen diversos estudios de imagen que se pueden emplear en el diagnóstico de la presencia y severidad de la OA.

- Radiografía: La radiografía convencional es el estudio de imagen más ampliamente utilizado en OA y permite la detección de características incluyendo los osteofitos marginales, disminución del espacio articular, esclerosis subcondral y quistes. (21,22) Las radiografías se pueden usar también para medir el estrechamiento del espacio articular, el cual a veces es utilizado como medida de pérdida de cartílago articular. Sin embargo, los cambios radiográficos en la OA son insensibles sobre todo en pacientes en etapas tempranas de la enfermedad y tienen pobre correlación con los síntomas. (23- 25)
- Imagen por Resonancia Magnética (IRM): La mayoría de los pacientes con síntomas sugestivos y/o características radiográficas de OA no requieren de una RMN. Sin embargo, esta última puede identificar OA en etapas tempranas antes de que los cambios radiográficos se presenten. Estos cambios incluyen los defectos del cartílago y lesiones de la médula ósea. Además, puede usarse para verificar patología en otras estructuras de la articulación no visualizadas por la radiografía: derrame, sinovial y ligamentos.

- Ultrasonido (US): otro método de imagen que puede identificar cambios estructurales asociados a OA y es útil para detectar inflamación sinovial, derrame y osteofitos. Las limitaciones del US son que es operador dependiente y que no puede ser usado para visualizar estructuras profundas de la rodilla y del hueso subcondral.
- Líquido Sinovial: el líquido sinovial de las articulaciones con OA es típicamente no inflamatorio o levemente inflamatorio con menos de 2000 leucocitos/mm³, predominantemente células mononucleares.

Clasificación Kellgren –Lawrence

La clasificación radiológica más utilizada es Kellgren y Lawrence que subdivide la enfermedad según su severidad del grado 0 al 4 según la aparición secuencial de: osteofitos, disminución del espacio articular, esclerosis subcondral y quistes subcondrales. (26) (Figura 1)

Figura 1



Tratamiento

Todos los pacientes con OA deben tener intervenciones apropiadas que incluyan una combinación de modalidades de tratamiento farmacológico y no farmacológico. En contraste a los pacientes con OA leve, los pacientes con OA moderada y severa generalmente requieren de intervenciones adicionales debido al grado de discapacidad funcional y el impacto que representa en su calidad de vida.

En el manejo de la OA leve, moderada y severa las intervenciones no farmacológicas son la primera línea de tratamiento. Otras medidas no farmacológicas que pueden ser consideradas son los aparatos de apoyo para caminar, así como intervenciones psicológicas. Medicamentos adicionales pudieran ser requeridos, incluyendo los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), esteroides intraarticulares y duloxetina. La cirugía se reserva para los pacientes con síntomas refractarios.

- Ejercicio: todos los pacientes con OA moderada a severa deben hacer ejercicio para aliviar el dolor y protección de la articulación. (27)
- Apoyo para deambular: se recomienda utilizar bastón en la mano contralateral para aquellos pacientes que tengan dificultad para deambular debido a OA y/o dolor moderado o severo resistente a otro tipo de tratamiento. (28)

- Intervención psicológica: se ha demostrado que las intervenciones psicológicas, en particular la terapia conductual, resulta en mejoría significativa del dolor y discapacidad físicas y mental en pacientes con dolor crónico. (29)
- AINE vía oral: se recomiendan preferentemente a demanda, en pacientes con dolor moderado los cuales no han tenido alivio con los AINE tópicos o tienen OA sintomática en varias articulaciones. En pacientes con factores de riesgo para toxicidad gastrointestinal, se prefiere celecoxib o un AINE no selectivo con inhibidor de bomba de protones.

2.2.- Métodos de evaluación

Escala Visual Análoga

La escala visual análoga (EVA) es una herramienta utilizada para evaluar la intensidad del dolor. Es una línea en cual el extremo izquierdo significa ausencia de dolor y del otro extremo el máximo dolor que se pueda imaginar. El paciente marca un punto en la línea que coincide con la cantidad de dolor que siente. Se puede usar para elegir la dosis correcta de un analgésico. (30)

Escala WOMAC

La Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) es una evaluación ampliamente utilizada por los profesionales de la salud para evaluar la condición de los pacientes con OA de rodilla o cadera valorando dolor, inflamación y función física de las articulaciones. La escala de WOMAC ha sido utilizada para dolor lumbar, artritis reumatoide, lupus eritematoso y fibromialgia. Fue desarrollada en Western Ontario and McMaster University en 1982. Mide 5 ítems para dolor (0-20), 2 para inflamación (0-8) y 17 para limitación funcional (0-68). Las preguntas relacionadas con la actividad física incluyen actividades de la rutina diaria como subir y bajar escaleras, ponerse de pie, cambiar de una posición sedente o decúbito, pararse, caminar, entrar a un coche, ir de compras, poner y quitarse los calcetines, salir del baño, sentarse y tareas pesadas del hogar. Requiere alrededor de 12 minutos para elaborarse, pero también existe una versión corta. La escala de WOMAC es ampliamente utilizada en los estudios de investigación de artritis. Ha sido traducida en más de 65 idiomas. (31)

2.3.- Células Madre

Origen

Las células madre son aquellas que tienen la capacidad de auto-renovación y diferenciación. Están clasificadas en base al tipo de célula diferenciada que

pueden reproducir. Las células madre pluripotenciales pueden hacer todo tipo de las células del embrión, incluyendo células germinales y células derivadas de ectodermo, mesodermo y endodermo. (32,33)

Células embrionarias: son las células que típicamente derivan de la preimplantación del blastocisto (7 a 10 días posteriores a la fertilización). Células madre adultas: típicamente derivan del tejido que se forma posterior a los 10 a 14 días de la fertilización y son conocidas como células somáticas cuando derivan de un tejido no germinal. (34)

Desde el año del 2006 ha sido posible crear células madre pluripotentes inducidas por medio de reprogramación, un proceso que involucra el trasplante de genes en células maduras, con reversión a un estado pluripotente. Las células pluripotentes inducidas proveen el potencial de crear un tejido específico en un cultivo derivado de una célula somática. El potencial de su uso terapéutico es grandioso, a pesar de que la necesidad de manipulación genética en el proceso limita la transferencia a la aplicación clínica actualmente. (35)

Las células madre actualmente presentan oportunidades para diferentes aplicaciones clínicas. El reemplazo de células madre hematopoyéticas es actualmente una intervención que es ampliamente utilizada en procesos hematológicos. Terapia en quemaduras, injerto óseo y trasplante corneal son algunas de las condiciones en las que actualmente se utilizan los tejidos generados a base de células madre.

El reemplazo de tejidos en otras condiciones como enfermedad de retina, enfermedad de Parkinson e infarto al miocardio continúa en desarrollo. Algunas de las preocupaciones relacionadas a la tecnología incluyen la integración de las células trasplantadas en las redes celulares complejas, oncogénesis en el sitio de trasplante y la habilidad de generar los tipos celulares correctos en la etapa correcta de diferenciación. (36)

El trasplante de células madre pudiera tener la habilidad de modificar el tejido enfermo en un modo parácrino, sin un verdadero injerto. Finalmente, las células madre pudieran generar tejido para ser utilizado como modelo de laboratorio para el estudio de enfermedades en donde obtener tejido vivo es difícil o imposible.

Se ha generado preocupación en relación con los aspectos éticos relacionados al estudio de las células madre. El uso de células madre pluripotentes inducidas pudieran mitigar la preocupación de utilizar embriones, sin embargo, continúan situaciones que tienen que ser resueltas.

Potencial de Replicación

Todas las células madre tienen dos funciones cardinales: son capaces de autorrenovarse y diferenciarse. La autorrenovación es la capacidad de las células de proliferar sin perder su potencial de diferenciación y sin pasar por un proceso de envejecimiento biológico. La autorrenovación no implica que cada división celular resulte en exactamente dos réplicas de la célula madre; las células hijas pueden ser células madre o células más diferenciadas. De hecho, se cree que

las células madre son capaces de dividirse de una manera simétrica (en donde las células hijas pueden ser células madre o células diferenciadas) o asimétrica (una célula madre y una más diferenciada).

El potencial de la célula madre es definido por los tipos de células que puede formar. Pueden ser totipotentes, pluripotentes, multipotentes o unipotentes.

- Totipotentes: tiene la capacidad de producir todo tipo de células de un organismo en desarrollo, incluyendo tejidos embrionicos y extraembrionicos.
- Pluripotentes: pueden hacer solo células propias del embrión, pero pueden hacer todas las células embrionarias incluyendo células germinales y células de cualquier línea germinal. Por ende, pueden hacer cualquier tipo de célula del cuerpo.
- Multipotentes: pueden hacer células de una línea germinal.
- Unipotentes: pueden hacer células de un solo tipo celular. (32)

Orígenes de las células madre

Fuentes de células madre: pueden derivar de embriones humanos o tejidos somáticos en el adulto o pueden ser creadas por medio de inducir una mayor potencia en células somáticas ya diferenciadas.

Células embrionarias: son típicamente derivadas de un blastocisto preimplantación (7-10 días post-fertilización). Las técnicas más frecuentes para

derivar células embrionarias es la interrupción del blastocisto, lo cual conlleva consideraciones éticas.

Células madre adultas: se piensa que están presentes en casi todos los tejidos y persisten durante toda la vida. Se cree que pueden proveer la base para el mantenimiento de tejidos y respuesta ante la lesión. Esto es particularmente cierto para los tejidos en donde hay un alto recambio celular como la sangre, piel e intestino.

Sin embargo, para otros tejidos incluyendo los islotes de células pancreáticas no está claro si existen las células madre adultas y si es posible que las células madre sean una fuente duradera de células de reemplazo de algunos tejidos, pero no en otros. La división de las células maduras pudieran ser la base del reemplazo después de la pérdida de algunas células en los tejidos.

La implicación de esto es que se piensa que las células maduras sólo tienen un limitado número de divisiones celulares, a diferencia de las células madre. Por lo tanto, en situaciones de lesión extensa un tejido que depende de un residual de células maduras para reemplazar los tejidos dañados pudiera estar más limitado en su capacidad de regeneración que los tejidos que pueden apoyarse en sus células madre. Ésta es una de las hipótesis de la falla en la reparación de los islotes pancreáticos en la diabetes mellitus tipo 1, mientras que un daño extenso en la sangre secundario a quimioterapia puede resultar en una completa restauración de la función tisular.

Células madre pluripotentes inducidas: el concepto de la relación cercana de las células madre potenciales y el estadio de desarrollo cambió dramáticamente en el 2006. Shinya Yamanaka y sus colegas llevaron a cabo diversos estudios en donde genes que eran expresados en las células madre pluripotenciales así mismo lo hacían en las células maduras. De esta forma, los genes podrán ser expresados de manera ectópica en una célula en donde normalmente no son expresados. Este proceso se llama reprogramación, el cual induce un estado pluripotente en un tipo celular previamente diferenciado. (34,37)

CD34

Marcadores antigénicos de superficie celular: las características de la superficie celular han sido utilizadas para purificar o definir poblaciones de células que incluyen células madre hematopoyéticas y progenitoras. Para los humanos, los marcadores que se utilizan frecuentemente son: el antígeno CD34 expresado en las células madre hematopoyéticas y progenitoras, y CD38 expresados en un subgrupo de progenitores más maduros y células maduras, pero no células madre.

Las células madre hematopoyéticas más primitivas son CD34+ y CD38 -. Sin embargo, las células CD34+ comprenden alrededor del 2-5% de la población de células nucleadas en médula ósea. Entonces, mientras marcadores tales como CD34+ son útiles para identificar células primitivas, su presencia es una indicación indirecta de la presencia de células madre hematopoyéticas. (38 - 40)

Movimiento y Homing

Estas células tienen una capacidad de “anidación” o “homing” (por su nombre en inglés) así como en la secreción de citocinas, factores de crecimiento y en mecanismos de reparación por medio de inmunomodulación. (41)

2.4.- Nuevos Tratamientos en OA

Actualmente el tratamiento de la OA es principalmente farmacológico y sintomático. Se requiere un tratamiento óptimo que incluya analgesia, mejore la función articular, detenga la destrucción del cartílago articular y de ser posible regenere el cartílago dañado. No existe tratamiento disponible para detener la progresión o revertir el daño ya establecido. El paracetamol es la droga de elección para el manejo del dolor debido a su bajo costo y seguridad a dosis recomendadas. (2,42) Nuevas opciones de tratamiento incluyen ingeniería para regeneración tisular, la cual incluye métodos de cosecha y trasplante. (43,44)

El autotrasplante de tejidos es una estrategia bien establecida para el tratamiento de tejido dañado o perdido después de un trauma, resección oncológica o deformidades congénitas. En este escenario se han estudiado las células madre.

Existen diferentes sitios de obtención siendo la más común la médula ósea, donde son recolectadas y administradas local o sistémicamente. En la terapia celular la médula ósea ofrece ventajas sobre otros sitios como una mayor concentración de células madre en menor volumen, fácil acceso, no requiere de un catéter venoso central y excluye la necesidad de realizar una aféresis. (45)

Estas células tienen el potencial de producir efectos terapéuticos basados en su capacidad de regenerar lesiones del cartílago articular y aliviar los síntomas, particularmente aquellos debidos a la interacción célula-célula. Además, existen ventajas adicionales para aquellos centros que tienen limitación en recursos y poca disponibilidad para internamiento, ya que el procedimiento es completamente ambulatorio. (46)

Diversos estudios reportan resultados después de la terapia de células madre en OA de rodilla. (47) Centeno y cols. así como Wakitani y cols. reportaron los primeros casos tratados con células madre de médula ósea con resultados promisorios. Es importante mencionar que no existen reportes previos de esta terapia con estimulación “in vivo” seguido de una inyección intraarticular sin intervención quirúrgica. (48 - 50)

Decidimos realizar un ensayo clínico prospectivo para determinar si la inyección intraarticular de células madre de médula ósea estimulada “in vivo” pudiera llevar a una mejoría en el dolor y calidad de vida en los pacientes con OA de rodilla.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS

La terapia con infiltración intra-articular de células CD34+ tiene mejor resultado clínico que el tratamiento con paracetamol oral en pacientes con osteoartrosis de rodilla.

CAPÍTULO IV

OBJETIVOS

Objetivo Principal

Determinar el grado de mejoría clínica con la infiltración intraarticular de células CD34+ en los pacientes con osteoartrosis de rodilla.

Objetivos Particulares

1. Reclutar pacientes con diagnóstico de OA de rodilla
2. Tratar el grupo experimental con factor estimulador de colonia de granulocitos
3. Extraer, procesar y aplicar células CD34+
4. Tratar el grupo control con paracetamol oral
5. Obtener, comparar y analizar los resultados clínicos de ambos grupos

CAPÍTULO V

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño

Estudio prospectivo, abierto, no randomizado fase I/II para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia preliminar de una inyección intrarticular de células nucleadas totales de médula ósea en pacientes con diagnóstico de OA de rodilla. El estudio fue debidamente registrado en el Comité de Ética de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario UANL con la clave OR11-005 y en clinicaltrials.gov NCT01485198.

Criterios de Inclusión

Se reclutaron pacientes diagnosticados con osteoartrosis de rodilla de la consulta externa del Servicio de Traumatología y Ortopedia del Hospital Universitario de Monterrey, OA de rodilla grado II y III según la clasificación radiológica de Kellgren y Lawrence, mayores de 18 años de edad, afección unilateral, tiempo de evolución mayor a seis meses y que hayan firmado consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

Se excluyeron del estudio aquellos con enfermedades neurodegenerativas, autoinmunes, neoplásicas y traumática (fractura articular, lesión meniscal y ligamentaria intraarticular), pacientes con infección sistémica, infección activa de rodilla o antecedente de esta en los últimos seis meses, cirugía articular de rodilla con menos de seis meses de evolución, inyección articular de rodilla con menos de 3 meses de evolución. Se eliminaron del estudio los pacientes que abandonaron el estudio y los que tuvieron pérdida del seguimiento.

Metodología

Se formaron dos grupos: el grupo experimental con 30 pacientes tratado con células madre de médula ósea vía intraarticular y el grupo control con 31 pacientes, que se sometieron a tratamiento con paracetamol a dosis de 500mg vía oral cada 8 horas.

1) Grupo Experimental:

- Los pacientes del grupo experimental se les administro G-CSF a dosis de 600mcg/día vía subcutánea dividido a dos inyecciones diarias por 3 días consecutivos, el 4to día se realizó la extracción de la médula ósea. El aspirado de médula ósea se efectuó con los pacientes en posición decúbito ventral, bajo sedación con midazolam intravenosa a dosis de 100 microgramos/kg; realizado en ambas crestas ilíacas posteriores, utilizando un par de agujas Jamshidi (Carefusion Corporation, Chicago, Il, USA) previa limpieza quirúrgica de la región con solución de clorhexidina por 10 minutos y anestesia local con 4 ml de xilocaina simple al 1%, obteniendo 75ml de cada cresta, 150ml en total, el cual se colocó en tubos cónicos estériles de 50ml (Corning Inc., Corning, NY, USA) que contenían solución anticoagulante, preparada en una campana de flujo laminar a base de heparina de 1,000uds y citrato dextrosa en una dilución 1:100. Todo

realizado en la sala de procedimientos del Servicio de Hematología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

- Procesamiento de la médula ósea

El procesamiento se realizó en el laboratorio del Servicio de Hematología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, la muestra se sometió a filtros de 180 μm para liberarla de espículas óseas y fragmentos de grasa. Se obtuvo una alícuota de 0.5ml para determinar la cantidad de leucocitos por medio de un contador celular hematológico (Coulter T-890) y un análisis inmunofenotípico de células que expresen los marcadores CD34+ y CD45+ y viabilidad celular (citometría de flujo - Beckton Dickinson FACS calibur). La muestra se sometió a centrifugación a 2,600G por 15 minutos a 6°C, posteriormente bajo sistema abierto de campana de flujo laminar se aisló la capa de blancos (células nucleadas totales) retirando el plasma y el paquete globular obteniendo un volumen final de 10ml con una cantidad promedio de 19×10^6 CD34+, determinada por medio de la toma de otra alícuota.

- Infiltración de células madre intrarticular

La infiltración de las células fue inmediata al obtener la muestra, realizándose en el cuarto de procedimientos del mismo servicio con el paciente en decúbito dorsal con la rodilla flexionada 70° grados infiltrando vía infrapatelar inmediatamente lateral al tendón rotuliano utilizando una jeringa de 10 ml con aguja de 18GX1 ½”, previa limpieza quirúrgica de la

región con clorhexidina por 10 minutos y anestesia local con 3 ml de xilocaina simple al 1% del área de punción. A todos los pacientes se les re-infundió el sobrante de medula ósea por vía intravenosa en un lapso de 10 minutos. Todos los pacientes fueron infiltrados por el mismo cirujano ortopedista; se trataron de manera ambulatoria y regresaron a sus actividades habituales ese día.

2) Grupo Control

- Los pacientes incluidos en el grupo control recibieron tratamiento con paracetamol oral a una dosis de 500 miligramos cada 8 horas por 6 meses. De igual forma que los pacientes del grupo de las células madre se les realizó la evaluación de EVA y WOMAC al inicio, a la semana, al mes y a los seis meses.

Análisis Estadístico

Los pacientes de ambos grupos fueron evaluados por un mismo médico, mediante la escala WOMAC y EVA al inicio, semana, mes y seis meses de realizada la terapia.

En el análisis estadístico se realizó un contraste bilateral con riesgo α del 5% y una potencia del contraste del 80%, considerando significativos aquellos valores de p inferiores a 0,05. Se calcularon frecuencias absolutas y porcentajes correspondientes para las variables cualitativas. Las variables cuantitativas se expresaron como media \pm desviación estándar para las variables con distribución normal, así como mediana y rango para las que no. En las variables categóricas se utilizó Ji del cuadrado de Pearson y en las tablas de 2x2 prueba exacta de Fisher. En las variables numéricas se empleo T de student para muestras independientes o U de Mann Whitney en caso de las variables con distribución no paramétrica.

Para las correlaciones se utilizo el coeficiente de correlación de Pearson entre los valores basales y los obtenidos a los diferentes tiempos de evaluación posterior al cual se empleo ANOVA con análisis de comparaciones múltiples de Bonferroni. El análisis estadístico se realizó con IBM SPSS versión 20 (SPSS, Inc.,Armon,NY).

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 61 pacientes: 30 en el grupo 1 (células madre) y 31 en el grupo 2 (grupo de paracetamol) . Se perdieron 10 pacientes en el seguimiento, cuatro y seis respectivamente.

Las características sociodemográficas tales como género, edad, peso, estatura e índice de masa corporal fueron similar en ambos grupos. (Tabla 1)

Característica	Grupo 1	Grupo 2	p
n	30	31	–
Género			–
Masculino	7 (23%)	9 (29%)	
Femenino	23 (77%)	22 (71%)	
Peso (kg)	78.23 ± 13.00	80.41 ± 17.52	0.58
Estatura (m)	1.63 ± 0.07	1.59 ± 0.86	0.10
Edad (años)	55.67 ± 12.02	59.32 ± 10.85	0.21
IMC (kg/m ²)	29.48 ± 5.22	31.61 ± 7.38	0.20

Tabla 1. Comparación de las características demográficas entre los grupos

De acuerdo a la clasificación de osteoartrosis Kellgren-Lawrence no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

Las puntuaciones iniciales para EVA y WOMAC fueron similares en ambos grupos: EVA para Grupo 1 5.27 ± 2.196 y para el Grupo 2 4.32 ± 2.35 ($p= 0.10$). WOMAC para Grupo 1 62.61 ± 18.55 comparado con el grupo 2 69.93 ± 17.89 ($p= 0.12$). Evaluaciones posteriores a la semana , 1 mes y 6 meses mostraron diferencia estadísticamente significativa en las escalas de EVA y en las evaluaciones de 1 semana, un mes y seis meses para la escala de WOMAC en el Grupo 1:(Tabla 2, Figura 2 y 3). La media de células CD34+ inyectadas fué de 20.56×10^6 (Rango: 5.2×10^6 - 43.36×10^6).

Variable	Grupo 1 ($x \pm DE$) N=26	Grupo 2 ($x \pm DE$) N=25	p
EVA 1 semana	2.31 ± 2.24	4.40 ± 2.44	0.003
EVA 1 mes	1.62 ± 2.04	4.24 ± 2.72	<0.0001
EVA 6 meses	0.92 ± 1.29	4.64 ± 2.43	<0.0001
WOMAC 1 semana	80.72 ± 20.41	71.62 ± 14.62	0.07
WOMAC 1 mes	88.58 ± 17.12	69.92 ± 14.87	<0.0001
WOMAC 6 meses	91.73 ± 9.45	72.96 ± 15.04	<0.0001

Tabla 2. Comparación de las evaluaciones EVA y WOMAC entre los grupos.

Los puntajes WOMAC se basan en una escala de 0 a 100 puntos, en donde el 100 es la mejor puntuación posible.

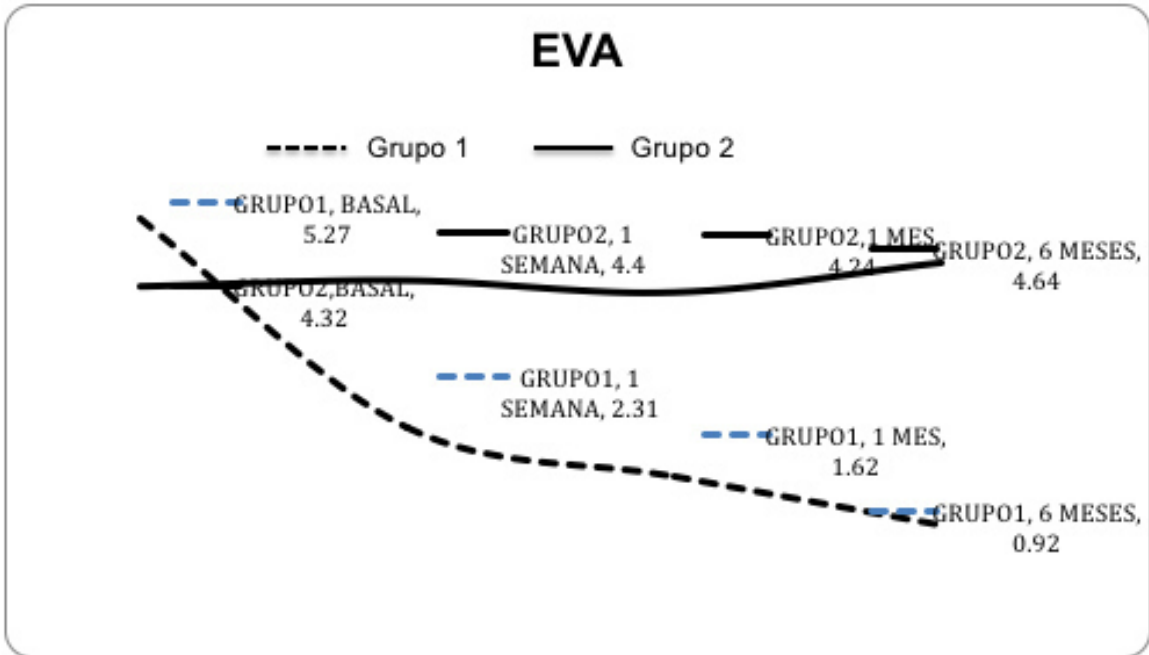


Figura 2. Escala Visual Análoga

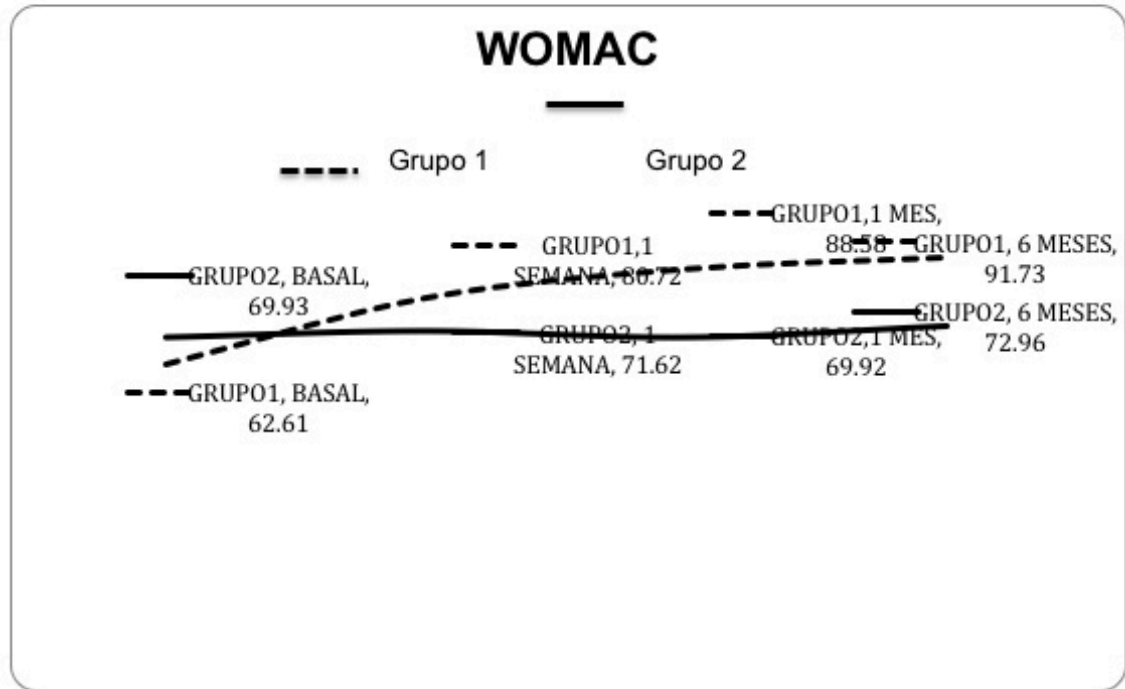


Figura 3. Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index

Eventos adversos

Un paciente del grupo 1 presentó edema y dolor en la rodilla tratada un día después de la infiltración de las células madre. Se descartó infección y la paciente se recuperó sin complicaciones posteriores. Doce pacientes refirieron dolor óseo durante la estimulación con G-CSF. Algunos pacientes refirieron dolor e inflamación en el sitio de infiltración de células madre durante las primeras 48 horas posteriores a la inyección. No se reportaron otras complicaciones.

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN

Como se ha revisado recientemente el desarrollo de nuevos tratamientos para la OA, incluyen la esprifermina y el factor recombinante de crecimiento de fibroblastos -18, tanezumab un anticuerpo monoclonal contra el factor de crecimiento β -nerve consiguiendo mayor efectividad y menos riesgo de eventos adversos. Los abordajes regenerativos, incluyendo implantación de condrocitos autólogos, láminas libres de células y las células pluripotentes inducidas, entre otros, son alternativas pausibles para la regeneración del cartílago y la restauración del tejido sano. (50,51)

A pesar de éstos avances aún hay mucho por hacer a fin de que se proporcionen opciones efectivas de tratamiento para la OA. En nuestro estudio, el efecto benéfico de las células madre de médula ósea (BM-SC) fue evaluado en OA de rodilla. Como se menciona anteriormente, decidimos utilizar médula ósea autóloga porque tiene una mayor concentración de células madre en un menor volumen, así como su fácil acceso. Además, este estudio es sustentable,

llevado a cabo de manera ambulatoria y se tiene experiencia tanto en enfermedades hematológicas como en no hematológicas. (45,52)

La movilización sistémica de las células madre y de otros precursores de la médula ósea (CD34+) por medio de la utilización de factores de crecimiento representa una manipulación mínima con una consecuente reducción del riesgo de introducir virus y priones. (53,54)

Por lo tanto utilizamos células madre de médula ósea estimulada *in vivo*. En el presente estudio se utilizó filgrastim para la estimulación *in vivo* porque es bien sabido que existe un factor dependiente de la edad en la disminución del número de células progenitoras en la médula ósea en pacientes mayores. (55,56)

El factor estimulante de colonias (G-CSF) incrementa el número de células madre en la médula ósea y la seguridad en su uso en donadores sanos ha sido estudiada, con efectos colaterales mínimos, tales como cefalea, debilidad, dolor óseo, debilidad y náusea, los cuales son generalmente transitorios y bien tolerados. (57-59)

En relación al grupo control utilizamos paracetamol debido a que es considerado como primer línea de tratamiento, aliviando el dolor y mejorando la función física con bajo grado de toxicidad a largo plazo. (42)

Hasta nuestro conocimiento este es el primer ensayo clínico controlado utilizando células madre de médula ósea estimulada *in vivo* con una inyección única para el tratamiento de la OA de rodilla.

Nuestro estudio difiere de otros estudios realizados recientemente en relación al potencial de las células madre en la regeneración del cartílago utilizando diferentes técnicas y fuentes de estudios previos en modelos animales han demostrado el beneficio potencial de las células madre en la regeneración del cartilago articular. (59-64)

Otros estudios en humanos, se han realizado utilizando células madre de diferentes sitios de obtención tales como el tejido adiposo,(65-68) o de sangre periférica a través de aféresis.(69,70). Algunos estudios incluyen series de casos y ensayos clínicos con células madre mesenquimales de médula ósea, algunos de ellos administradas por medio de intervenciones quirúrgicas (49,71-73) y otras por medio de inyección intra-articular (48,74-77)

Evaluamos los resultados por medio de la escala visual análoga (EVA) y la escala de WOMAC, ya que estas han sido ampliamente utilizadas en otros estudios de OA. Con la intención de determinar la función de la rodilla y el dolor, y encontrar si hubo una mejoría desde la primer semana posterior al tratamiento en el grupo de las células madre.

En este escenario es posible que las células madre tengan un efecto anti-inflamatorio, el cual puede explicar la mejoría clínica a corto plazo. Los efectos inmunoreguladores inhiben fuertemente el reconocimiento de las células T y la expansión por medio de la inhibición de la producción de TNF- α y INF- γ , lo cual incrementa los niveles de IL-10.(78) Este beneficio continúa con una tendencia en incremento durante las evaluaciones subsecuentes. El grupo de las células madre obtuvo una mejoría significativa en el dolor de la rodilla y en la calidad de vida desde la primera evaluación hasta la última a los seis meses.

Nuestro estudio tiene ciertas limitaciones, tales como el seguimiento a corto plazo y la ausencia de estudios radiológicos o de histología para demostrar el incremento en el volumen del cartílago. Sin embargo, nuestro objetivo principal de demostrar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de la inyección intraarticular de células madre de médula ósea para el control del dolor en OA fue completado exitosamente.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIÓN

En conclusión, el presente estudio demuestra la factibilidad de un procedimiento completamente ambulatorio para modificar el curso natural de la OA con una intervención de bajo riesgo, no farmacológica, libre de complicaciones.

La inyección de células madre de médula ósea autólogas pudiera ser una terapia promisorio en el tratamiento de la OA de rodilla.

CAPÍTULO IX

ANEXOS

11.1.- Cuestionario WOMAC

ESCALA DE WOMAC

DOLOR	NINGUNO			POCO			BASTANTE			MUCHO			MUCHISIMO		
Andar por terreno llano															
Subir y bajar escaleras															
Por la noche en la cama															
Sentado o tumbado															
Al estar de pie															

RIGIDEZ	NINGUNO			POCO			BASTANTE			MUCHO			MUCHISIMO		
Al despertar por la mañana															
El resto del día después de estar sentado o tumbado															

CAPACIDAD FUNCIONAL (dificultad para)	NINGUNO			POCO			BASTANTE			MUCHO			MUCHISIMO		
Bajar escaleras															
Subir escaleras															
Levantarse después de estar sentado															
Estar de pie															
Agacharse para agarrar algo del suelo															
Andar por terreno llano															
Subir y bajar del carro															
Ir de compras															
Ponerse medias o calcetines															
Levantarse de la cama															
Quitarse medias o calcetines															
Estar acostado en la cama															
Entrar o Salirse de bañar															
Estar sentado															
Sentarse y levantarse el baño															
Hacer tareas domésticas ligeras															
Hacer tareas domésticas pesadas															

11.2.- Carta de Consentimiento Informado

Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González"

UANL

CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LA PLANTILLA

CONSENTIMIENTO PARA SER UN SUJETO EN LA INVESTIGACIÓN

Este documento se presenta de conformidad con el artículo 100 sección IV de la Ley General de Salud, en vigor con la última modificación del mismo, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 28 de junio del 2005. El consentimiento informado por escrito debe ser obtenido del sujeto en quien se llevará a cabo la investigación, o de su representante legal en el caso de incapacidad legal del sujeto, una vez que hayan sido informados de los objetivos de la investigación y de las posibles consecuencias positivas o negativas que podrían tener para su salud.

Esta forma de consentimiento describe el estudio de investigación y su papel como participante. Por favor lea este formulario cuidadosamente. No dude en hacer cualquier pregunta respecto a la información proporcionada. Esto deberá estimular sus preguntas. Su médico, enfermera, o una persona del equipo le describirá el estudio y responderá sus preguntas.

1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Efectos clínicos de la administración de paracetamol 500 mg cada 8 horas por 6 meses en osteoartritis de rodilla.

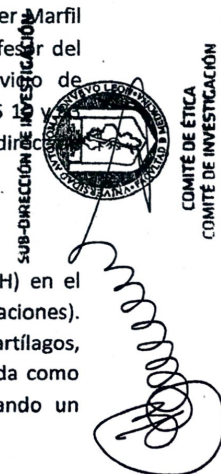
Se le pide participar en un estudio de investigación. Antes de dar su consentimiento para ser voluntario, es importante que lea la siguiente información y hacer tantas preguntas como sea necesario para asegurarse de que entienda lo que se le pide.

2. LOS INVESTIGADORES

El Dr. Domingo Garay Mendoza, profesor del Departamento de Traumatología y Ortopedia, la Dra. María del Consuelo Mancias Guerra, profesora del Servicio de Hematología, la Dra. Laura Villareal Martínez, profesora del Servicio de Hematología, el Dr. Oscar González Llano y el Dr. Javier Marfil Rivera, ambos profesores del servicio de hematología, Dr. med. Carlos Acosta Olivo, profesor del Departamento de Traumatología y Ortopedia a quienes puede localizar en el Servicio de Hematología, y en el Departamento de Traumatología y Ortopedia en el teléfono 83 48 85 11 y 89 11 11 extensión 3330 ambos del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, con dirección en Ave. Maderos y Gonzalitos s/n Col. Mitras Centro, C.P. 64460.

3. INTRODUCCIÓN

Recientemente se ha investigado el papel de las células madre hematopoyéticas (CMH) en el tratamiento de múltiples afecciones incluyendo la osteoartritis (inflamación de las articulaciones). Las CMH tienen la capacidad de reparar tejidos dañados incluyendo huesos, músculos, cartílagos, nervios y sangre. Es por esto que en los últimos años la terapia con CMH ha sido aplicada como herramienta para regenerar tejidos después de una lesión o enfermedad representando un elemento importante en la medicina regenerativa ingeniería tisular.



Forma de consentimiento de investigación RODILLA
Iniciales de participante: _____

4. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio está diseñado para evaluar si el aplicar células de la médula ósea propias del paciente le brinda mejoría clínica en la función de su rodilla, la cual ha sido deteriorada por cuestiones degenerativas.

Los datos obtenidos con este estudio nos ayudarán a saber si estos pacientes que padecen de dicha condición se puede beneficiar con esta investigación. Las células podrían o no ser benéficas en la recuperación total o parcial de su rodilla.

5. PROCEDIMIENTOS

Si usted decide y ofrece participar en este estudio de investigación de manera voluntaria, después de firmar el presente documento, será sometido a una serie de evaluaciones clínicas, posteriormente se le dará tratamiento con paracetamol el cual es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo. Dicho medicamento se administrará en una dosis de 500 mg cada 8 horas durante un periodo de 6 meses. La evaluación clínica se realiza al inicio, a los 7 días, a los 30 días y 180 días de iniciado el procedimiento.

6. ENTRE LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS

Entre las posibles reacciones adversas que se pueden presentar con éste fármaco se encuentran: diarrea, dolor abdominal, alteraciones hematológicas (neutropenia y trombocitopenia), urticaria, eritema, comezón, ronquera, hipotensión, hipoglucemia, aumento en las transaminasas y daño hepático.

7. LOS BENEFICIOS POTENCIALES DE LA INVESTIGACIÓN

Comparar los beneficios de la aplicación de células madre hematopoyéticas, que pueden ser útiles en la regeneración de ciertos tejidos y mejoría del dolor y función con la administración de paracetamol 500 mg cada 8 horas por 6 meses.

8. CONFIDENCIALIDAD Y ALMACENAMIENTO DE DATOS

Con el fin de que su nombre permanezca en estricta confidencialidad, cada paciente se identificará exclusivamente con las iniciales y con el número de expediente, de tal forma que su nombre puede siempre en anonimato.

Cabe mencionar que los datos recabados de este estudio se utilizarán exclusivamente para fines de este mismo, y que no se darán a conocer a nadie que no se encuentre directamente involucrado con el estudio, es decir, los investigadores arriba mencionados y sus asesores exclusivamente, considerando en todo momento el uso del número de expediente y las iniciales del nombre del involucrado. Además, en ningún momento se tomaran fotos ni videos de los procedimientos realizados en el paciente, ni mucho menos del paciente mismo.

9. PARTICIPACIÓN EN EL RETIRO

Forma de consentimiento de investigación RODILLA
Iniciales de participante: _____

COMITÉ DE INVESTIGACIÓN



COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

[Handwritten signature]

Es muy importante que recuerde que su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Como participante usted puede negarse a participar en cualquier momento. Para retirarse del estudio por favor contacte al Dr. Domingo Garay Mendoza en el teléfono 83891111 ext. 3330

10. LAS PREGUNTAS SOBRE LA INVESTIGACIÓN

Si usted tiene alguna pregunta acerca de la investigación, por favor hable con la Dra. María del Consuelo Mancías Guerra y la Dra. Laura Villarreal Martínez a quienes puede localizar en el Servicio de Hematología en el teléfono 83488510 y/o al Dr. Domingo Garay Mendoza en el Departamento de Traumatología y Ortopedia en el teléfono 83891111 ext.3330.

11. EN CASO DE LESIÓN

Es poco probable que la participación en este proyecto traiga como resultado daño a los participantes. Si existe lesión secundaria al tratamiento, usted deberá notificar al investigador principal para que reciba la atención médica necesaria en el Hospital Universitario "Dr. José E. González".

12. COSTOS

Los costos de los procedimientos así como todos aquellos que deriven para la realización del presente estudio serán cubiertos por usted como paciente, ya que actualmente no se cuenta con recursos propios para financiar este estudio de investigación que servirá como pilar en el desarrollo de una nueva opción de tratamiento para pacientes como Usted. Su colaboración será importante en este proceso.

13. INCENTIVOS PARA PARTICIPAR

No se le ofrecerá ningún incentivo por participar en el estudio, únicamente la oportunidad de recibir un tratamiento alternativo a su padecimiento actual.

14. GRABACIÓN DE AUDIO Y VIDEO

No se llevara a cabo.

15. LAS RAZONES PARA LA EXCLUSIÓN DE ESTE ESTUDIO

Los pacientes con enfermedades neurodegenerativas, autoinmunes o genéticas, así como pacientes con infección activa, incluyendo infección en rodilla reciente, cirugía abierta de rodilla, o fractura podrán ser incluidos en el desarrollo del presente trabajo.

COMITÉ DE ÉTICA Y DE INVESTIGACIÓN

Este proyecto ha sido revisado y aprobado con el Comité de Ética y el Comité de Investigación de la Facultad de Medicina y del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Si usted cree que hay alguna violación a sus derechos como sujeto de investigación, puede comunicarse con el Presidente del Comité,

*Dr. José Gerardo Garza Leal
Presidente del Comité de Ética
Teléfono de Contacto: 83294050 ext2870-74*

Se le ha dado la oportunidad de hacer preguntas y estas han sido contestadas a su satisfacción.

Forma de consentimiento de investigación RODILLA
Iniciales de participante: _____



Si firma abajo indica que está de acuerdo para participar como voluntario en este estudio de investigación.

16. ACUERDO

Su consentimiento para participar en la investigación será voluntario e informado. Si usted está de acuerdo en participar y si sus preguntas han sido contestadas a su entera satisfacción, usted deberá firmar esta forma. Una vez firmada la forma, usted está de acuerdo en participar en este estudio. En caso de que usted se rehúse a participar, usted podrá retirarse sin pérdida de alguno de sus beneficios médicos.

Una vez que usted haya consentido, usted aun tendrá el derecho de retirarse en cualquier momento sin que esto afecte su atención médica. Para retirarse, lo único que usted deberá hacer es informar a su médico de su decisión.

Se le ha proporcionado una copia de esta forma para quedársela y para que haga referencia a ella cuando sea necesario.

Fecha *Firma del familiar* *Nombre en letra de molde*

1

Fecha *Firma del primer testigo* *Nombre en letra de molde*

Relación del Primer Testigo con el paciente *Dirección*

2

Fecha *Firma del segundo testigo* *Nombre en letra de molde*

Relación del Segundo Testigo con el paciente *Dirección*

II. ASEGURAMIENTO DEL INVESTIGADOR O DEL MIEMBRO DEL EQUIPO

He discutido lo anterior con esta persona. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Fecha *Firma del persona que obtuvo el consentimiento* *Nombre en letra de molde*

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN

Forma de consentimiento de investigación RODILLA

Iniciales de participante: _____

CAPÍTULO X

BIBLIOGRAFÍA

1. Osteoarthritis: national clinical guideline for care and management in adults. In: Conditions. NCCfC (Ed), Royal College of Physicians, London 2008.)
2. Wieland HA, et.al. 2005 Osteoarthritis an untreatable disease? Nat Rev Drug Discov. 4;331-344
3. Jordan JM, Luta G, Renner JB, et al. Self-reported functional status in osteoarthritis of the knee in a rural southern community: the role of sociodemographic factors, obesity, and knee pain. Arthritis Care Res 1996; 9:273.
4. Spector TD, Hart DJ, Doyle DV. Incidence and progression of osteoarthritis in women with unilateral knee disease in the general population: the effect of obesity. Ann Rheum Dis 1994; 53:565.

5. Lindsay R. Estrogen deficiency. In: Osteoporosis: Etiology, Diagnosis, and Management, Second Edition, Riggs BL, Melton LJ (Eds), Lippincott-Raven Publishers, 1995. p.13
6. Coggon D, Croft P, Kellingray S, et al. Occupational physical activities and osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1443.
7. Panush RS. Does exercise cause arthritis? Long-term consequences of exercise on the musculoskeletal system. *Rheum Dis Clin North Am* 1990; 16:827.
8. Spector TD, Cicuttini F, Baker J, et al. Genetic influences on osteoarthritis in women: a twin study. *BMJ* 1996; 312:940.
9. Hunter DJ, Demissie S, Cupples LA, et al. A genome scan for joint-specific hand osteoarthritis susceptibility: The Framingham Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50:2489.)
10. Liu-Bryan R, Terkeltaub R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2015; 11:35.
11. Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, Goldring MB. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum* 2012; 64:1697.

12. Loeser RF. Aging processes and the development of osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2013; 25:108.
13. Struglics A, Larsson S, Kumahashi N, et al. Changes in Cytokines and Aggrecan ARGS Neopeptide in Synovial Fluid and Serum and in C-Terminal Crosslinking Telopeptide of Type II Collagen and N-Terminal Crosslinking Telopeptide of Type I Collagen in Urine Over Five Years After Anterior Cruciate Ligament Rupture: An Exploratory Analysis in the Knee Anterior Cruciate Ligament, Nonsurgical Versus Surgical Treatment Trial. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67:1816.
14. Sellam J, Berenbaum F. Is osteoarthritis a metabolic disease? *Joint Bone Spine* 2013; 80:568.
15. Tsezou A. Osteoarthritis year in review 2014: genetics and genomics. *Osteoarthritis Cartilage* 2014; 22:2017.
16. Hawker GA, Stewart L, French MR, et al. Understanding the pain experience in hip and knee osteoarthritis--an OARSI/OMERACT initiative. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16:415.
17. Allen KD, Coffman CJ, Golightly YM, et al. Daily pain variations among patients with hand, hip, and knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:1275.

18. Hill CL, Gale DR, Chaisson CE, et al. Periarticular lesions detected on magnetic resonance imaging: prevalence in knees with and without symptoms. *Arthritis Rheum* 2003; 48:2836.
19. Creamer P, Lethbridge-Cejku M, Hochberg MC. Where does it hurt? Pain localization in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1998; 6:318.
20. Cibere J, Zhang H, Thorne A, et al. Association of clinical findings with pre-radiographic and radiographic knee osteoarthritis in a population-based study. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010; 62:1691.
21. Hayashi D, Roemer FW, Guermazi A. Imaging for osteoarthritis. *Ann Phys Rehabil Med* 2016; 59:161.
22. Roemer FW, Eckstein F, Hayashi D, Guermazi A. The role of imaging in osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2014; 28:31.
23. Bedson J, Croft PR. The discordance between clinical and radiographic knee osteoarthritis: a systematic search and summary of the literature. *BMC Musculoskelet Disord* 2008; 9:116.
24. Kim C, Nevitt MC, Niu J, et al. Association of hip pain with radiographic evidence of hip osteoarthritis: diagnostic test study. *BMJ* 2015; 351:h5983.

25. Hannan MT, Felson DT, Pincus T. Analysis of the discordance between radiographic changes and knee pain in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol* 2000; 27:1513.
26. Kellgren, J.; Lawrence, J. Atlas of standard radiographs. The epidemiology of chronic rheumatism. Vol. Vol. 2. Blackwell Scientific Publications; Oxford: 1963.
27. Bartels EM, Juhl CB, Christensen R, et al. Aquatic exercise for the treatment of knee and hip osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; 3:CD005523.)
28. Jones A, Silva PG, Silva AC, Colucci M, Tuffanin A, Jardim JR, Natour J Impact of cane use on pain, function, general health and energy expenditure during gait in patients with knee osteoarthritis: a randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(2):172.
29. Keefe FJ, Porter L, Somers T, et al. Psychosocial interventions for managing pain in older adults: outcomes and clinical implications. *Br J Anaesth* 2013; 111:89.

30. Wewers, M. E., & Lowe, N. K. (1990). A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Research in Nursing & Health, 13*, 227–236.
31. Bellamy N. *WOMAC Osteoarthritis Index User Guide. Version V*. Brisbane, Australia 2002.
32. Morrison SJ, Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature* 2006; 441:1068.
33. Tajbakhsh S, Rocheteau P, Le Roux I. Asymmetric cell divisions and asymmetric cell fates. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2009; 25:671.)
34. Tumber T, Guasch G, Greco V, et al. Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science* 2004; 303:359.
35. Hou P, Li Y, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. *Science* 2013; 341:651.
36. Terzic A, Nelson TJ. Regenerative medicine primer. *Mayo Clin Proc* 2013; 88:766.
37. Barker N, van Es JH, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 2007; 449:1003.)

38. Terstappen LW, Huang S, Safford M, et al. Sequential generations of hematopoietic colonies derived from single nonlineage-committed CD34+CD38- progenitor cells. *Blood* 1991; 77:1218.
39. Sutherland HJ, Eaves CJ, Eaves AC, et al. Characterization and partial purification of human marrow cells capable of initiating long-term hematopoiesis in vitro. *Blood* 1989; 74:1563.
40. Glimm H, Eisterer W, Lee K, et al. Previously undetected human hematopoietic cell populations with short-term repopulating activity selectively engraft NOD/SCID-beta2 microglobulin-null mice. *J Clin Invest* 2001; 107:199.
41. Fong E, Chan C, Goodman S. Stem cell homing in musculoskeletal injury. *Biomaterials* [Internet]. 2011;32(2):395–409. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961210011397>
42. Menashe L, Hirko K, Losina E, Kloppenburg M, Zhang W, Li L, et al. The diagnostic performance of MRI in osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage* [Internet]. 2012;20(1):13–21.
43. Richette P, Bardin T. Structure-modifying agents for osteoarthritis: An update. *Jt Bone Spine*. 2004;71(1):18–23.

44. Sponer P, Kučera T, Diaz-Garcia D, Filip S. The role of mesenchymal stem cells in bone repair and regeneration. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2014;24(3):257–62.
45. Swearingen B, Ravindra K, Xu H, Wu S, Warren C, Ildstad ST. The Science of Composite Tissue Allotransplantation. *Tra.* 2008;86(5):627–35.
46. Mancías-Guerra C, Marroquín-Escamilla AR, González-Llano O, Villarreal-Martínez L, Jaime-Pérez JC, García-Rodríguez F, et al. Safety and tolerability of intrathecal delivery of autologous bone marrow nucleated cells in children with cerebral palsy: An open-label phase I trial. *Cytotherapy.* 2014;16(6):810–20.
47. Pintan GF, De Oliveira AS, Lenza M, Antonioli E, Ferretti M. Update on biological therapies for knee injuries: Osteoarthritis. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2014;7(3):263–9.
48. Anderson JA, Little D, Toth AP, Moorman CT, Tucker BS, Ciccotti MG, et al. Stem Cell Therapies for knee cartilage repair: the current status of preclinical and clinical studies. *Am J Sport Med.* 2014;42(9):2253–61.

49. Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M, Karli D. Regeneration of meniscus cartilage in a knee treated with percutaneously implanted autologous mesenchymal stem cells. *Med Hypotheses* [Internet]. 2008;71(6):900–8.
50. Wakitani S, Nawata M, Tensho K, Okabe T, Machida H, Ohgushi. Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007;1:74–9
51. Burke J, Hunter M, Kolhe R, Isales C, Hamrick M, Fulzele S. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell based therapy for osteoarthritis. *Clin Transl Med*. 2016;5(27).
52. Lane NE, Schnitzer TJ, Birbara CA, Mokhtarani M, Shelton DL, Smith MD, et al. Tanezumab for the treatment of pain from osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med*. 2010;363(16):1521–31.
53. Jaime-Perez JC, Heredia-Salazar AC, Cantu-Rodriguez OG, Gutierrez-Aguirre H, Villarreal-Villarreal CD, Mancias-Guerra C, et al. Cost structure and clinical outcome of a stem cell transplantation program in a developing country: the experience in northeast Mexico. *Oncologist*. 2015;20(4):386–92.

54. Marmotti A, De Girolamo L, Bonasia DE, Bruzzone M, Mattia S, Rossi R, et al. Bone marrow derived stem cells in joint and bone diseases: A concise review. *Int Orthop*. 2014;38(9):1787–801.
55. Van Der Kraan PM. Stem cell therapy in osteoarthritis: A step too far? *BioDrugs*. 2013;27(3):175–80.
56. Muschler GF, Nitto H, Boehm CA, Easley KA. Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *J Orthop Res*. 2001;19(1):117–25.
57. Brouard N, Driessen R, Short B, Simmons PJ. G-CSF increases mesenchymal precursor cell numbers in the bone marrow via an indirect mechanism involving osteoclast-mediated bone resorption. *Stem Cell Res* [Internet]. 2010;5(1):65–75.
58. Haynesworth SE, Stanton L, Caplan AI, et al. Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal (Stromal) Peripheral Blood Progenitor Cell Collections. *J Hematother*. 1997;6:447–56.
59. De Felice L, Agostini F, Suriano C, Fraboni D, Gregorj C, Tirindelli MC, et al. Hematopoietic, Mesenchymal, and Immune Cells Are More Enhanced in Bone Marrow than in Peripheral Blood from Granulocyte Colony-Stimulating Factor Primed Healthy Donors - ClinicalKey. *Biol Blood*

Marrow Transplant [Internet]. 2016;22(10):1758–64.

60. Chen S-H, Wang T, Yang K. Hematopoietic stem cell donation. *Int J Hematol* [Internet]. 2013;97(4):446–55.
61. Kehoe O, Cartwright A, Askari A, El Haj AJ, Middleton J. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells leads to reduced inflammation and cartilage damage in murine antigen-induced arthritis. *J Transl Med* [Internet]. 2014;12(1):157.
62. Sato M, Uchida K, Nakajima H, Miyazaki T, Guerrero AR, Watanabe S, et al. Direct transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley strain guinea pigs with spontaneous osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2012;14(1):R31.
63. Saw KY, Hussin P, Loke SC, Azam M, Chen HC, Tay YG, et al. Articular Cartilage Regeneration With Autologous Marrow Aspirate and Hyaluronic Acid: An Experimental Study in a Goat Model. *Arthrosc - J Arthrosc Relat Surg* [Internet]. 2009;25(12):1391–400.
64. Singh A, Goel SC, Gupta KK, Kumar M, Arun GR, Patil H, et al. The role of stem cells in osteoarthritis: An experimental study in rabbits. *Bone Joint Res*. 2014;3(2):32–7.

65. Song F, Tang J, Geng R, Hu H, Zhu C, Cui W, et al. Comparison of the efficacy of bone marrow mononuclear cells and bone mesenchymal stem cells in the treatment of osteoarthritis in a sheep model. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(4):1415–26.
66. Ude CC, Sulaiman SB, Min-Hwei N, Hui-Cheng C, Ahmad J, Yahaya NM, et al. Cartilage regeneration by chondrogenic induced adult stem cells in osteoarthritic sheep model. *PLoS One*. 2014;9(6).
67. Chua KH, Zaman Wan Safwani WK, Hamid AA, Shuhup SK, Mohd Haflah NH, Mohd Yahaya NH. Retropatellar fat pad-derived stem cells from older osteoarthritic patients have lesser differentiation capacity and expression of stemness genes. *Cytherapy [Internet]*. 2014;16(5):599–611.
68. Koh YG, Choi YJ. Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. *Knee [Internet]*. 2012;19(6):902–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.knee.2012.04.001>
69. Koh YG, Choi YJ, Kwon SK, Kim YS, Yeo JE. Clinical results and second-look arthroscopic findings after treatment with adipose-derived stem cells for knee osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2015;23(5):1308–16.

70. Koh YG, Jo SB, Kwon OR, Suh DS, Lee SW, Park SH, et al. Mesenchymal stem cell injections improve symptoms of knee osteoarthritis. *Arthrosc - J Arthrosc Relat Surg* [Internet]. 2013;29(4):748–55.
71. Saw K-Y, Anz A, Siew-Yoke Jee C, Merican S, Ching-Soong Ng R, Roohi S a, et al. Articular Cartilage Regeneration With Autologous Peripheral Blood Stem Cells Versus Hyaluronic Acid: A Randomized Controlled Trial. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg* [Internet]. 2013;29(4):684–94.
72. Turajane T, Chaweewannakorn U, Larbpaiboonpong V, Aojanepong J, Thitiset T, Honsawek S, et al. Combination of intra-articular autologous activated peripheral blood stem cells with growth factor addition/preservation and hyaluronic acid in conjunction with arthroscopic microdrilling mesenchymal cell stimulation Improves quality of life and regenera. *J Med Assoc Thai*. 2013;96(5):580–8.
73. Buda R, Vannini F, Cavallo M, Baldassarri M, Luciani D, Mazzotti A, et al. One-step arthroscopic technique for the treatment of osteochondral lesions of the knee with bone-marrow-derived cells: Three years results. *Musculoskelet Surg*. 2013;97(2):145–51.
74. Vangsness T, Farr J, Boyd J, Dellaero DT, Mills CR, Leroux-Williams M. Adult Human Mesenchymal Stem Cells Delivered via Intra-Articular Injection to the Knee Following Partial Medial Meniscectomy. *J Bone Jt*

Surg. 2014;96:90–8.

75. Xia P, Wang X, Lin Q, Li X. Efficacy of mesenchymal stem cells injection for the management of knee osteoarthritis : a systematic review and meta-analysis. *Int Orthop*. 2015; 39(12):2363-72.

76. Davatchi et al. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. *Int J Rheum Dis [Internet]*. 2011;14(2):211–5.

77. Hauser RA, Orlofsky A. Regenerative injection therapy with whole bone marrow aspirate for degenerative joint disease: A case series. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*. 2013;6:65–72.

78. Orozco L, Munar A, Soler R, Alberca M, Soler F, Huguet M, et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Autologous Mesenchymal Stem Cells. *Transplantation*. 2014;97(11):e66-8

CAPÍTULO XI

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

- **Nombre:** Domingo Garay Mendoza
- **Candidato:** Grado de Doctor en Medicina
- **Tesis:** Efectos de la infiltración de células CD34+ autólogas de médula ósea no criopreservadas en osteoartrosis de rodilla
- **Campo de Estudio:** Ciencias de la Salud

- **Datos Personales:** Nacido en Ciudad de México el 06 de agosto de 1976

- **Educación:**
 - Médico Cirujano y Partero egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León (1993 - 2000)
 - Especialidad en Cirugía Traumatológica y Ortopédica en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” (2001 – 2005)
 - Subespecialización en Cirugía Artroscópica y Artroplastia de Rodilla y Cadera en la “Clínica Universitaria de la Universidad de Navarra” Pamplona, España (2005)
 - Estancia profesional en la Universidad de Hemostasia y Trombosis del Hospital Universitario “La Fe” Valencia (2014)
 - Doctorado en Medicina por la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León de 2011 a la fecha
 - Profesor del Departamento de Emergencias “Shock-Trauma” del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de octubre del 2006 a la fecha
 - Profesor del Servicio de Ortopedia y Traumatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de octubre del 2016 a la fecha