



Universidad Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Aplicaciones terapéuticas de las células madre
mesenquimales en Traumatología

Therapeutic applications of mesenchymal stem
cells in Traumatology

Autor

Carlos Javier Calvo Asín

Directora

Matilde Desirée Pereboom Maicas

Facultad de Medicina

Curso 2020 - 2021



Facultad de Medicina
Universidad Zaragoza

**SOLICITUD/DEPÓSITO
VºBº DIRECTOR/A
Trabajo Fin Grado**

DEPARTAMENTO Farmacología, Fisiología, Medicina Legal y Forense TRIBUNAL N° 26

DATOS DEL ESTUDIANTE

Apellidos y Nombre Carlos Javier Calvo Asín NIP 724035

TÍTULO DEL TRABAJO:

Aplicaciones terapéuticas de las células madre mesenquimales en Traumatología
Therapeutic applications of mesenchymal stem cells in Traumatology

DATOS DEL DIRECTOR/A PONENTE (Profesor del Departamento)

Apellidos y Nombre (1º) Pereboom Maicas, Matilde Desirée

CODIRECTOR (Si procede)

Apellidos y Nombre (2º).....

DECLARO *Expresamente* que asumo la originalidad y autoría del trabajo, no habiendo utilizado para su elaboración fuentes sin citarlas previamente.

El trabajo ha sido introducido en la página web de la Universidad de Zaragoza "<http://deposita.unizar.es>"

Fecha: 28 de Mayo de 2021

Deberá presentar este documento de solicitud/depósito por correo electrónico en la secretaría del Departamento junto con una copia en formato digital (.pdf) del TFG.

La autorización para la defensa del TFG por parte del director/a se llevará a cabo con la presentación por correo electrónico en la secretaría del Departamento del Informe de Evaluación Director/a por parte del mismo.

*“La cosa más hermosa que podemos experimentar
es el misterio. Es la fuente de todo arte y toda ciencia”*

Albert Einstein (1879-1955)

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a aquellas personas que han hecho posible que esté prestando este Trabajo de Fin de Grado.

A mi tutora, **Desirée Pereboom**, por ser la guía en todo momento. Le agradezco todas las capacidades y conocimientos que me ha hecho adquirir a lo largo del proceso de elaboración.

A la **Dra Yaiza Marzo**, por su amabilidad y ayuda con la modelación estética de este trabajo.

Al **servicio de Traumatología del Hospital Universitario Miguel Servet**, por su colaboración en informarme de las perspectivas actuales del tratamiento de ciertas patologías traumatológicas.

A **mis padres y mi hermano**, por su amor incondicional y por creer siempre en mí. Gracias por haberme transmitido el amor por esta profesión, por haberme enseñado valores fundamentales, por haberme hecho una mejor persona día tras día y por vuestra paciencia y comprensión. Sin vosotros nada de esto sería posible. Os llevo siempre conmigo.

A **mis amigos de la carrera**, por el apoyo que me han brindado a lo largo de estos 6 años y todos los buenos momentos que hemos compartido.

A la **Universidad de Zaragoza y a sus docentes** por darme la oportunidad de expandir mis conocimientos y por convertirme en la estudiante que soy hoy.

Gracias a todas las personas que directa o indirectamente me han hecho llegar hasta aquí.

ÍNDICE

RESUMEN	11
ABSTRACT	13
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	15
1. INTRODUCCIÓN	19
1.1 CÉLULAS MADRE: GENERALIDADES Y TIPOS	19
1.2 CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES	20
1.3 MECANISMO DE ACCIÓN.....	22
2. OBJETIVOS	27
3. MATERIAL Y MÉTODOS	31
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO Y MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE.....	31
3.1.1 Obtención a partir de médula ósea	31
3.1.2 Obtención a partir de tejido adiposo	33
3.1.3 Obtención a partir de sangre del cordón umbilical	36
3.1.4 Obtención a partir del tejido sinovial	37
3.1.5 Tendencias actuales	37
3.1.6 Medios de cultivo específico según la estirpe celular	38
3.1.7 Células madre según la fuente de obtención	40
3.2 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.....	42
4. APLICACIONES TERAPÉUTICAS	45
4.1 NEUROLOGÍA.....	46
4.2 CARDIOLOGÍA	46
4.3 NEUMOLOGÍA.....	47
4.4 OFTALMOLOGÍA	50
4.5 DERMATOLOGÍA.....	50
4.6 DIGESTIVO.....	51
4.7 TRAUMATOLOGÍA.....	53

4.7.1 Reparación ósea.....	53
Necrosis avascular de cabeza femoral (NACF).....	53
Osteoporosis	59
Fracturas y trastornos de la consolidación (pseudoartrosis).....	65
4.7.2 Reparación de tendones, ligamentos y meniscos	67
Rupturas tendinosas.....	67
Lesiones de ligamentos	68
Lesiones meniscales	69
4.7.3 Reparación de cartílago.....	71
Artrosis	71
5. CONCLUSIONES.....	77
6. BIBLIOGRAFÍA.....	81

RESUMEN

RESUMEN

Las células madre mesenquimales son células adultas y pluripotentes que se encargan del soporte trófico de los tejidos. Pueden ser extraídas de numerosos tejidos. La médula ósea es el tradicionalmente utilizado. Sin embargo, hay otros como el tejido sinovial, la sangre del cordón umbilical y, especialmente, el tejido adiposo. Una vez extraídas, las células madre pueden ser cultivadas para su expansión o inoculadas en el mismo acto quirúrgico. Dependiendo de la fuente de extracción, las células madre variarán en número, capacidad de diferenciación y de proliferación.

Actualmente hay un creciente interés en su aplicación en diversas patologías debido a su potencial de diferenciación (condroblastos, osteoblastos y adipocitos) y a sus propiedades inmunomoduladoras. Numerosos ensayos clínicos están siendo realizados en Cardiología (reparación cardiaca), Neumología (SDRA), Oftalmología (alternativa al trasplante corneal), Dermatología (alopecia, efecto anti-edad y curación de heridas), Digestivo (fístulas perianales complejas en enfermedad de Crohn y alternativa al trasplante hepático) y Traumatología (necrosis avascular de cabeza femoral, artrosis, pseudoartrosis, osteoporosis, rotura del maguito de los rotadores, rotura del LCA y desgarramiento meniscal). La NACF en estadios iniciales (FICAT I y II) es la patología traumática en la que más generalizado está el empleo de células madre.

A pesar de ser terapias muy prometedoras, no hay evidencia científica suficiente para estandarizar el uso de las células madre mesenquimales en la práctica clínica habitual. Por lo tanto, la investigación deberá continuar.

Palabras clave

Célula madre mesenquimal, regeneración, diferenciación celular, hueso, cartílago, tejido adiposo, médula ósea.

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells are adult pluripotent cells whose function is to give trophic support to tissues. They can be extracted from several tissues. Bone marrow is the one traditionally used. However, there are others such as synovial tissue, umbilical cord blood, and especially adipose tissue. Once they are extracted, the stem cells can be cultured for their expansion or inoculated in the same surgical procedure. Depending on the source of extraction, stem cells can vary in number and the capacity of differentiation and proliferation.

Currently, there is a growing interest in its application in various pathologies due to its differentiation potential (chondroblasts, osteoblasts and adipocytes) and its immunomodulatory properties. Numerous clinical trials are being carried out in Cardiology (cardiac repair), Pneumology (ARDS), Ophthalmology (alternative to corneal transplantation), Dermatology (alopecia, anti-aging effect and wound healing), Digestive (complex perianal fistulas in Crohn's disease, and as an alternative to liver transplantation) and Traumatology (avascular necrosis of the femoral head, osteoarthritis, pseudoarthrosis, osteoporosis, rotator cuff tear, ACL tear and meniscal tear). ANFH in initial stages (FICAT I and II) is the traumatological pathology in which the use of stem cells is most widespread.

Despite being very promising therapies, there is not enough scientific evidence to standardize the use of mesenchymal stem cells in routine clinical practice. Therefore, research should continue.

Keywords

Mesenchymal stem cell, regeneration, cellular differentiation, bone, cartilage, adipose tissue, bone marrow.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACV	Accidente cerebrovascular
AP-1	Proteína activadora 1
Atf4	Factor de transcripción activador 4
AVAD	Años de vida ajustados por discapacidad
AVD	Años vividos con discapacidad
AVP	Años de vida perdidos por muerte prematura
BMA	Aspirado de médula ósea
BMAC	Concentrado de aspirado de médula ósea
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
CBP	Cirrosis biliar primaria
CD	Cluster de diferenciación
CM	Células madre
DC	Célula dendrítica
DE	Desviaciones estándar
DMO	Densitometría ósea
EAP	Edema agudo de pulmón
EC	Enfermedad de Crohn
ELA	Esclerosis lateral amiotrófica
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
EVA	Escala visual analógica
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico
FiO ₂	Fracción inspiratoria de oxígeno
HGF	Factor de crecimiento de hepatocito
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
ISCT	Sociedad internacional de terapia celular
KGF	Factor de crecimiento
KOOS	Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score
LCA	Ligamento cruzado anterior
M-CSF	Factor estimulante de colonias de macrófagos

MO	Médula ósea
NGF	Factor de crecimiento nervioso
NK	Natural killer
OA	Osteoartritis
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONCF	Osteonecrosis de cabeza femoral
Osx	Osterix
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PGE-2	Prostaglandina E2
PRP	Plasma rico en plaquetas
PTH	Hormona paratiroidea
RANKL	Receptor activador del factor nuclear kb
RM	Resonancia magnética
SDRA	Síndrome de distrés respiratorio agudo
SERM	Modificadores selectivos de los receptores estrogénicos
STF	Suero de ternera fetal
SVF	Fracción estromal vascular
TFG- β	Factor de crecimiento transformante beta
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
WOMAC	Western Ontario and McMaster University Arthritis Index

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CÉLULAS MADRE: GENERALIDADES Y TIPOS.

En torno a la década de 1960, fueron descubiertas unas células con la peculiar capacidad de proliferar y diferenciarse en los distintos linajes celulares: las células madre. A partir de ese momento, se han realizado numerosas investigaciones para dilucidar sus características biológicas y posibles aplicaciones terapéuticas. ¹

Se distinguen dos clasificaciones de las mismas (figura 1). Con respecto a su **potencial de diferenciación**:

- Totipotentes: tienen capacidad de formar el embrión y el trofoblasto de la placenta. Son el cigoto y las descendientes de sus dos primeras divisiones.
- Pluripotentes: pueden diferenciarse en las tres líneas germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo) pero pierden la capacidad de formar la placenta. Comienzan a aparecer a los cuatro días con la diferenciación de las CM totipotentes.
- Multipotentes: capaces de dar lugar a un número limitado de células diferenciadas de acuerdo con su localización. Las CM del sistema nervioso central, por ejemplo, tienen el potencial de generar neuronas, oligodendrocitos y astrocitos.
- Unipotentes: son capaces de generar un solo tipo de célula específica. Por ejemplo, las CM de la membrana basal de la capa epidérmica. ^{2 3}

Con respecto a su **origen** de las células madre distinguimos:

- Embrionarias: como indica su nombre, se encuentran en el embrión. Sus principales ventajas son que poseen un gran potencial proliferativo y una gran plasticidad. Sin embargo, poseen numerosos problemas éticos relacionados con la manipulación de embriones que han supuesto la restricción de su manejo en numerosos países. Además, poseen potencial oncogénico, aumentando el riesgo de desarrollo de

teratomas y el trasplante de este tipo de células conlleva importantes reacciones inmunitarias. ^{4 5}

- Adultas: poseen un menor potencial proliferativo y una menor plasticidad, sin embargo, tienen numerosas ventajas con respecto a las embrionarias: están presentes en numerosos tejidos, su obtención es menos compleja, su manipulación no acarrea ningún problema ético, poseen un potencial muy bajo de desarrollo de teratomas, son capaces de producir citocinas y factores de crecimiento y pueden migrar a la región donde se ha producido daño tisular y ejercer acciones inmunomoduladoras. Por ello, ha habido un creciente interés en las posibles aplicaciones de este tipo de células madre para el tratamiento de numerosas patologías. ^{6 7 8}

Potencial de diferenciación	Origen
Totipotentes	Embrionarias
Pluripotentes	Adultas
Multipotentes	
Unipotentes	

Figura 1: Clasificación de los tipos de células madre (figura realizada por el autor)

1.2 CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Las CM mesenquimales fueron estudiadas inicialmente por Friedenstein y su grupo de investigación en 1966. Desde entonces, numerosos estudios han sido realizados para su descripción.

Son células madre adultas pluripotentes cuya función fisiológica es el soporte trófico de los tejidos durante los procesos de reparación y regeneración tisular. Están presentes en una gran variedad de tejidos (médula ósea, tejido

adiposo, cartílago, etc), son capaces de diferenciarse en numerosas estirpes celulares permitiendo la regeneración tisular y poseen importantes propiedades inmunológica, ejerciendo una función antiinflamatoria e inmunomoduladora. Todo ello ha suscitado un creciente interés en sus aplicaciones terapéuticas en el campo de la medicina regenerativa. ⁹

En 2006, la Sociedad Internacional de Terapia Celular estableció una serie de criterios con el fin de identificar y caracterizar a las CM mesenquimales. Así, los criterios que se deben cumplir para ser considerada CM mesenquimal son:

- Adherencia al plástico en condiciones normales de cultivo.
- Presencia de los marcadores de superficie CD90, CD44, CD73 y CD105 en más del 95% de células. (figura 2)
- Ausencia de los marcadores CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 α , CD19, HLA-DR
- Capacidad de proliferar y diferenciarse *in vitro* a condroblastos, osteoblastos y adipocitos ^{10 11}

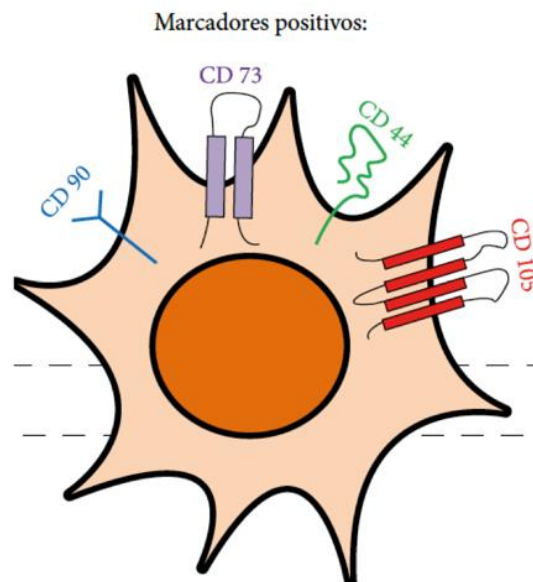
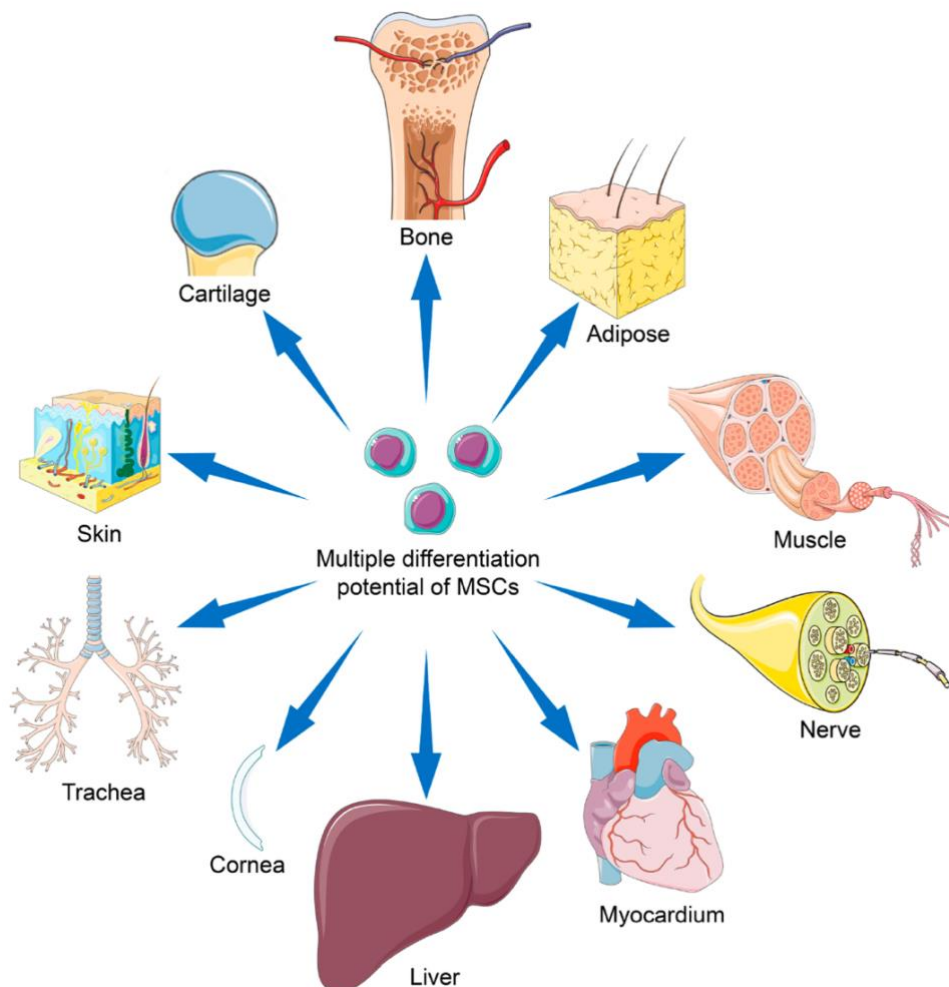


Figura 2: Esquema de los diversos marcadores de superficie característicos de la célula madre mesenquimal ¹¹

1.3 MECANISMO DE ACCIÓN

Desde su descripción y aislamiento, numerosos estudios han tratado de establecer cuáles eran los mecanismos por los que las células madre producían la regeneración tisular y así poder aplicarlo terapéuticamente.

Por un lado, son capaces de diferenciarse en múltiples linajes celulares para la reparación celular. Entre estas estirpes celulares encontramos: tejido óseo, adiposo, muscular, nervioso, miocárdico, hepático, corneal, traqueal, epidérmico y cartilaginoso. Esto hace que sean buenas candidatas para la terapia celular en patologías que cursen con degeneración o daño tisular (figura 3).¹²



*Figura 3: Potencial de diferenciación de CM mesenquimales a diferentes tipos de tejidos*¹²

A pesar de que en los comienzos se pensase que el principal mecanismo por el que las CM mesenquimales promovían la regeneración tisular era esta amplia capacidad de diferenciación, actualmente existe un consenso que sugiere que su potencial terapéutico se basa en las moléculas biológicamente activas que secreta de forma soluble o a través de vesículas extracelulares, las cuales poseen diversos efectos: ¹³.

- Antiapoptótico y proliferativo: HGF, IGF-1, IL-6, BDNF, NGF.
- Promotor de la neovascularización: VEGF, PDGF.
- Regulador del sistema inmune: IL-10, TGF- β 1, PGE-2.

Las vesículas extracelulares son producidas a partir de la membrana plasmática de la CM mesenquimal y su gran importancia reside en su papel en la comunicación intercelular gracias al transporte de numerosas proteínas (factores de crecimiento y citocinas), ADN, ARNm y microARN. Poseen un diámetro que varía entre 40 nm y 2 μ m, siendo las de mayor interés los exosomas (cuyo diámetro está comprendido entre 40-100 nm). Estas vesículas extracelulares pueden aislarse a partir del sobrenadante del cultivo celular, por lo que las que derivan de CM mesenquimales son consideradas una nueva alternativa terapéutica en medicina regenerativa y en ellas se centrará la investigación durante los próximos años. ^{14 15}

A su vez, poseen una serie de características que le permiten evadir al sistema inmune, no siendo reconocidos por los linfocitos: expresan bajos niveles de moléculas HLA de clase I y no expresan moléculas HLA de clase II ni moléculas coestimuladoras como CD40, CD40 ligando, B7-1 o b7-2. Todo ello hace que puedan ser empleadas en el contexto del trasplante alogénico. ^{16 17}

Asimismo, las CM mesenquimales son capaces de migrar a tejidos lesionados e inflamados, siendo el vehículo para genes y factores terapéuticos. Para ello, se puede inducir la sobreexpresión de ciertos genes en el laboratorio, por ejemplo el uso de CM mesenquimales modificadas genéticamente para que sobreexpresen el factor de crecimiento de insulina tipo I (IGF-1) en el tratamiento de fibrosis hepática en modelos experimentales animales. ^{18 19}

Por tanto, las CM mesenquimales poseen una serie de características muy atractivas para la medicina regenerativa: elevado potencial de diferenciación, capacidad de autorrenovación *in vitro*, propiedades inmunomoduladoras e inmunosupresoras, capacidad de secreción de factores tróficos y de migrar selectivamente a tejidos lesionados, así como la facilidad para la obtención de las células.²⁰

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

1. Definir con claridad las características de las células madre mesenquimales y diferenciarlas de las células madre embrionarias.
2. Establecer los diferentes mecanismos por los que las células madre mesenquimales producen la reparación tisular.
3. Determinar las principales fuentes de extracción de células madre, diferenciarlas entre sí y establecer las tendencias actuales en medicina regenerativa.
4. Indicar los medios de cultivo utilizados actualmente para el crecimiento de las células madre y la suplementación específica según la estirpe celular a la que se quieran diferenciar.
5. Definir las diversas especialidades médicas para las cuales se están realizando ensayos clínicos aplicando células madre mesenquimales en la actualidad, haciendo hincapié en Traumatología debido a su mayor aplicación.
6. Clarificar el grado de evidencia científica que hay con respecto al uso de células madre en la práctica clínica y enumerar algunos de los problemas actuales.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO Y MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE

Las CM mesenquimales pueden encontrarse en diversos tejidos: médula ósea roja, tejido adiposo, dermis, sinovial, periostio, cartílago, músculo esquelético, trompas de Falopio, tejido gingival, córnea, cordón umbilical, placenta y pulpa dental.^{12 21}

De todos ellos, los tejidos más frecuentemente utilizados actualmente para la obtención de CM mesenquimales son la médula ósea y el tejido adiposo, y por ello serán los que se desarrollen a continuación.

3.1.1 Obtención a partir de médula ósea

La fuente mejor caracterizada de CM mesenquimales es la médula ósea. Para su extracción se requiere una punción, normalmente de la cresta ilíaca, si bien puede ser de otras localizaciones como el húmero proximal o el fémur distal. En la figura 4 se aprecia la obtención de CM de diversas fuentes óseas (eje de abscisas) con respecto al número de células por mL (eje de ordenadas).²²

Esta técnica tiene dos inconvenientes: la concentración de CM mesenquimales es pequeña y es una técnica invasiva. La proporción de CM mesenquimales del total de células nucleadas de la MO es del 0,01%, variando según la edad del donante.²³

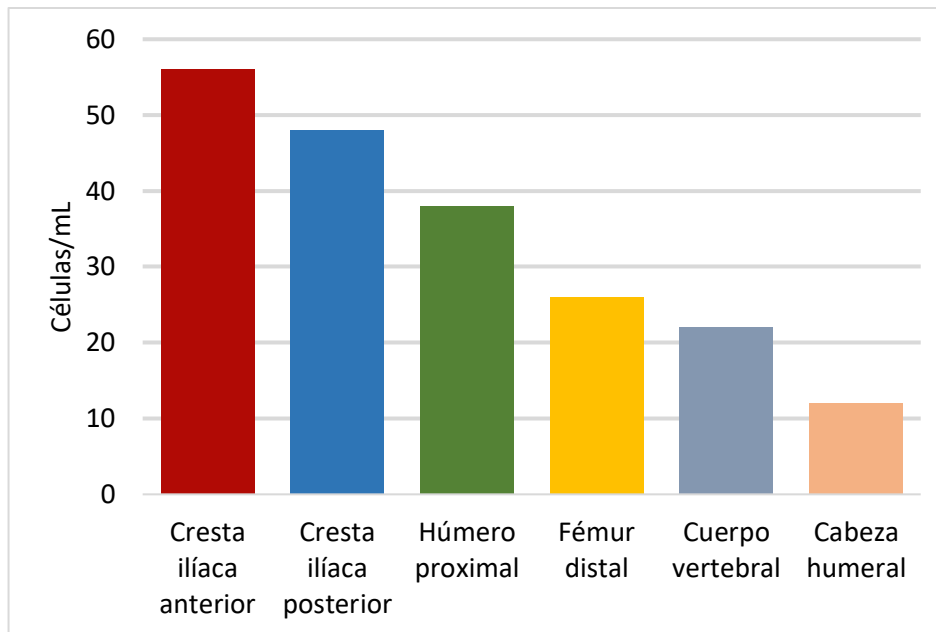


Figura 4: Comparación de la cantidad de células madre obtenidas a través de diferentes fuentes óseas (figura realizada por el autor).

Para realizar una técnica óptima, se deben realizar aspirados de 2-4 ml por punción, debiendo efectuarse varias punciones. Tras cada aspirado debe retraerse 5 mm la aguja para incrementar el rendimiento, hasta llegar a los 60-70 ml necesarios. En la figura 5 se puede apreciar el mecanismo de aspirado de médula ósea.



Figura 5: Técnica de realización del aspirado de médula ósea ²⁴

Hay otras alternativas para conseguir una mayor cantidad de CM mesenquimales, por ejemplo, mediante la expansión en medio de cultivo *in vitro*. Sin embargo, actualmente la tendencia es realizar preparaciones de concentrado autólogo a partir del aspirado de médula ósea (BMAC) con uso directo intraoperatorio. Así, una vez finalizado el aspirado del volumen deseado, se procede a la centrifugación de la muestra que separa los componentes según su densidad. En la figura 6 se puede apreciar la muestra de aspirado de médula ósea una vez centrifugada, observándose las tres capas bien definidas (plasma, capa leucocitaria y eritrocitaria), siendo la capa leucocitaria la que nos interesa pues en ella se alojan las células madre. ²⁴

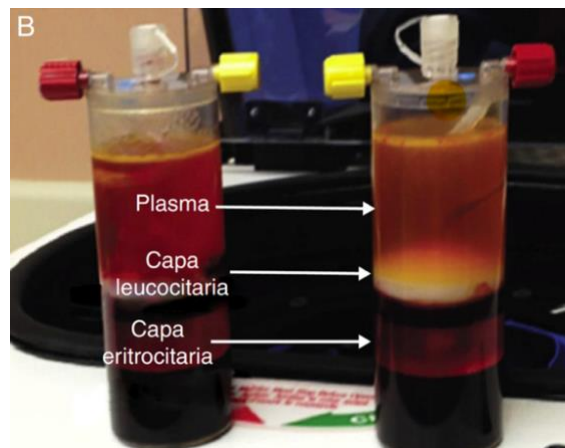


Figura 6: BMAC en el que se muestran las 3 capas definidas ²⁴

3.1.2 Obtención a partir de tejido adiposo

Desde hace años se ha estudiado la obtención de las CM mesenquimales a partir del tejido adiposo, con muy buenos resultados. Presentan ciertas ventajas con respecto a las derivadas de médula ósea: hay un mayor porcentaje de células madre en el tejido adiposo (5% comparado con 0,01%), es un procedimiento menos invasivo, de menor coste económico y mejor tolerado por el paciente. Todo ello ha generado un creciente interés en estos métodos por su sencillez y buena tolerancia.

Obtención de la muestra por lipoaspirado

La obtención de CM derivadas del tejido adiposo se realiza a partir del tejido celular subcutáneo. Puede ser llevado a cabo bajo anestesia locorregional (mepivacaína 1%). Se realiza una incisión con bisturí y una posterior liposucción manual tumescente mediante cánulas de 3 y 4 mm perforadas con varios orificios de diámetro como se observa en la figura 7. ²⁵

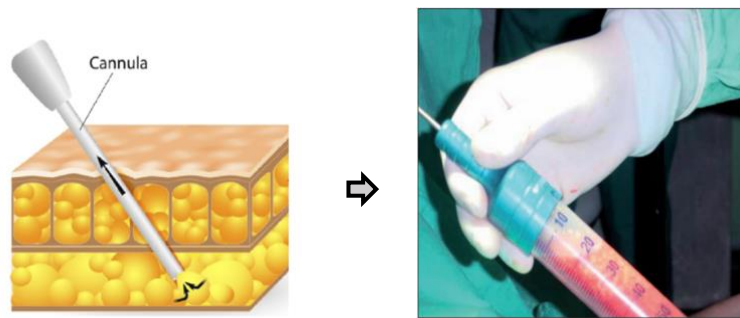


Figura 7: Liposucción manual del panículo adiposo abdominal ²⁵

Procesamiento del lipoaspirado: aislamiento y cultivo celular

Una vez obtenido el lipoaspirado, se coloca en tubos de laboratorio con igual volumen de suero fetal bovino, procediéndose a su agitación y centrifugación a 3000 rpm durante dos minutos. Se obtendrán 3 capas bien diferenciadas: superior (adipocitos fragmentados, triglicéridos y ácidos grasos libres), inferior (células hemáticas, anestésico local y solución salina) y media (tejido adiposo purificado) tal y como se observa en la figura 8.

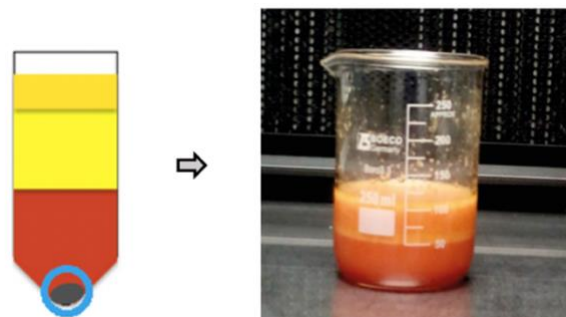


Figura 8: Muestra de lipoaspirado en la que se observan las tres capas bien diferenciadas. ²⁶

La capa media es la fracción estromal vascular (rica en leucocitos y plaquetas). Es la que nos interesa pues en ella se alojan las células madre. En la figura 9A se muestra el tubo de laboratorio que contiene el tejido adiposo purificado tras eliminar la capa superior e inferior del centrifugado. Este compuesto se somete a tratamiento enzimático con colagenasa al 0'1%, incubándose a 37 °C durante una hora, con agitaciones cada 15 minutos. Con ello se digiere la matriz extracelular. Posteriormente se centrifuga de nuevo, obteniéndose un precipitado de alta densidad tras desechar el líquido y grasa sobrante que se muestra en la figura 9B. ²⁵

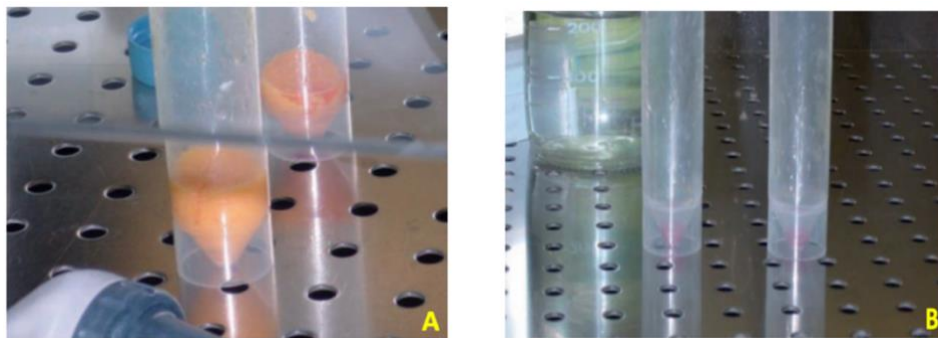


Figura 9: Proceso de obtención de células madre a partir del lipoaspirado. A. Tejido adiposo purificado B. Precipitado celular de alta densidad ²⁵

A continuación, se procede a cultivar el precipitado celular en medio de cultivo DMEM enriquecido con 10% de suero fetal bovino (STF) y 1% de penicilina + estreptomicina, en estufa de cultivo a 37 °C con 5% de CO₂. Se mantienen en estas condiciones hasta alcanzar una confluencia celular del 70-80%, lo cual ocurre en torno al sexto día (figura 10). Para la separación de las células adheridas al frasco de cultivo se procede a la tripsinización de las mismas, con posteriores lavados y resuspendidas en suero fisiológico para su aplicación.

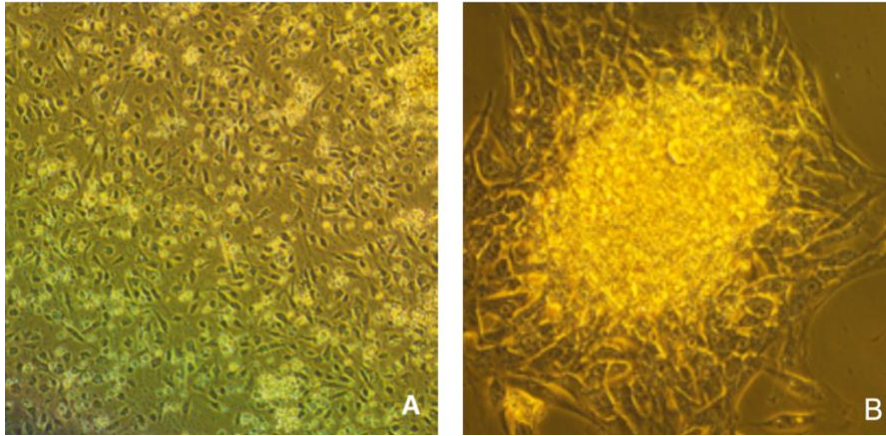


Figura 10: Cultivo de células madre A. Día cero del cultivo. B. Colonia de células madre tras varios días de cultivo ¹¹

Posteriormente, se procede a la comprobación de los criterios definitorios de células madre establecidos por la *Sociedad Internacional de Terapia Celular* (anteriormente detallados).

3.1.3 Obtención a partir de sangre del cordón umbilical

La extracción es un método no invasivo. Tras realizar un lavado del cordón umbilical con tampón fosfato salino para eliminar cualquier contaminante de sangre, el cordón umbilical es cortado transversalmente en pequeños fragmentos (1-2 cm) tras retirar la vena y las arterias umbilicales. Se somete al preparado a digestión enzimática con tripsina durante 3 horas a 37° C. Tras ello, se añade a la muestra STF para neutralizar la enzima y se centrifuga a 2000 rpm durante 10 minutos. Posteriormente se resuspenden las células en medio de cultivo DMEM suplementado con estreptomicina, penicilina y anfotericina B a 37° C con una concentración de CO₂ del 5%. Tras 48 horas de cultivo, las células proliferan hasta alcanzar la confluencia y cuando ésta supera el 80% se añade tripsina para despegar las células del recipiente de cultivo. Tras este proceso, pueden cultivarse de nuevo para expandir la muestra. ^{27 28}

Este método posee ciertas ventajas: es indoloro para madre e hijo y es barato y rápido (permite la extracción en el momento del parto sin necesidad de

realizar un nuevo procedimiento quirúrgico como en el caso de la obtención a partir de médula ósea). Sin embargo, no se hace en todos los centros por lo que su disponibilidad es baja. Por ello, se crearon programas de donación de CM derivadas de la sangre del cordón umbilical. Las células son almacenadas en biobancos públicos para su posterior utilización en el trasplante de progenitores hematopoyéticos en aquellos pacientes con compatibilidad adecuada.²⁹

3.1.4 Obtención a partir del tejido sinovial

La muestra de tejido sinovial es obtenida mediante artroscopia. La fuente que más se ha estudiado para la extracción es la rodilla. Una vez obtenido el tejido, se procede a su digestión enzimática con una solución de colagenasa a 37° C durante 3 horas. Posteriormente, las células obtenidas son filtradas para obtener suspensiones celulares que serán cultivadas en medio DMEM con penicilina, estreptomycin y anfotericina B.^{30 31}

3.1.5 Tendencias actuales

Actualmente, los dos métodos más usados en la práctica clínica en traumatología son el concentrado de aspirado de médula ósea (BMAC) y la inyección de la fracción estromal vascular (SVF).

El BMAC ya ha sido explicado anteriormente y el procedimiento para su realización está representado en la figura 11: aspirado de médula ósea, concentración de la muestra para la separación de los componentes y posterior implantación en el mismo acto quirúrgico.

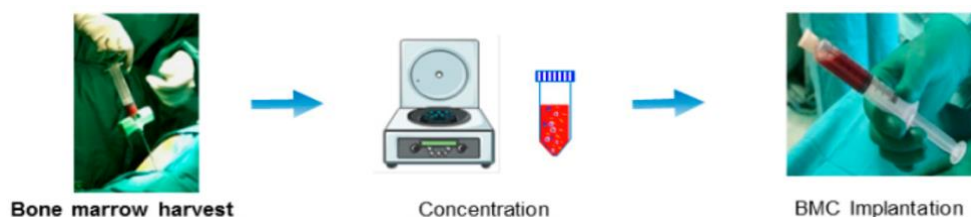
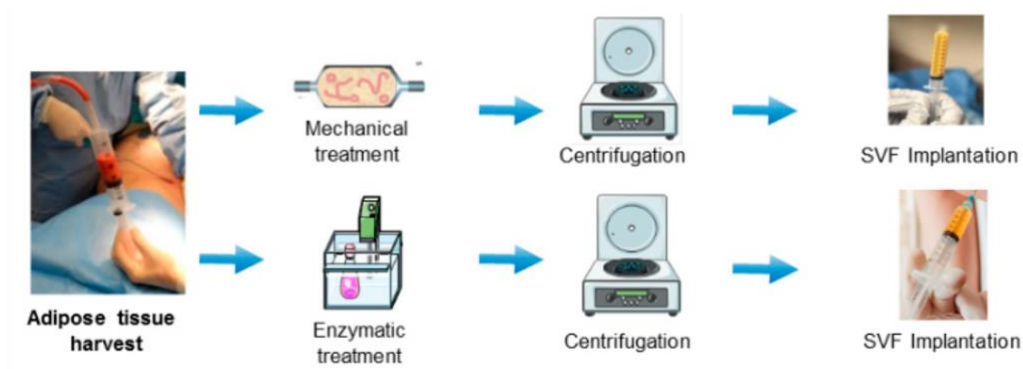


Figura 11: Preparación de BMC³²

La figura 12 es un esquema para la separación de la fracción estromal vascular (SVF) de tejido adiposo (que consta de células vasculares, estromales, células madre y factores de crecimiento). El procedimiento de obtención es mediante tratamiento mecánico o enzimático y posterior centrifugación. Con ello, se separarán los componentes y se hará posible el aislamiento de las CM, las cuales son administradas al paciente en el acto quirúrgico.



*Figura 12: Preparación de SVF*³²

Por ello, estas dos técnicas presentan importantes ventajas con respecto a las demás: gran rapidez (extracción e inoculación en el mismo acto quirúrgico), no hay riesgo de rechazo y no requiere una gran manipulación (como en los cultivos).³²

3.1.6 Medios de cultivo específico según la estirpe celular

Una vez obtenidas las muestras correspondientes de CM mesenquimales, puede procederse a su cultivo en el laboratorio. Para conseguir que estas células inmaduras se diferencien hacia una estirpe celular u otra (adipogénica, osteogénica, condrogénica o neurogénica) deben ser cultivadas en medios suplementados de forma específica para cada estirpe. Así, se cultivarán las CM en medio DMEM suplementado con 10% de STF. En la figura 13 se observan las distintas estirpes celulares hacia las cuales puede diferenciarse la CM mesenquimal y las suplementaciones específicas que requiere el medio de cultivo para conducir esa diferenciación tisular hacia una estirpe u otra:

- Osteogénica: β -glicerofosfato 10 mM + ácido ascórbico 50 μ M + dexametasona 100 nM.
- Adipogénica: isobutilmetilxantina 0'5 mM + dexametasona 1 μ M + insulina 1 μ M + indometacina 200 μ M.
- Condrogénica: ácido ascórbico 50 μ M + TGF β 1/TGF β 3 10 ng/ml + dexametasona 100 nM.
- Miogénica: hidrocortisona 50 μ M.
- Neurogénica: β -mercaptoetanol 5-10 mM sin suero fetal bovino. ^{12 25}

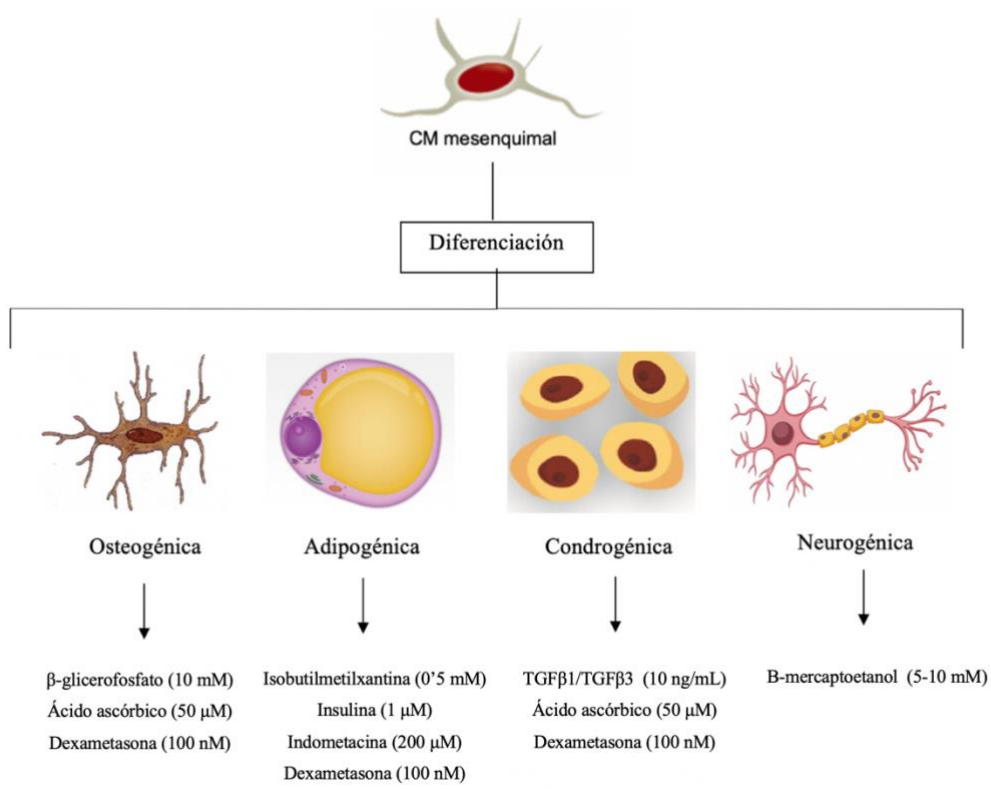


Figura 13: Representación esquemática de la suplementación específica del medio de cultivo de las CM mesenquimales (figura realizada por el autor).

3.1.7 Células madre según la fuente de obtención

En los últimos años, ha habido numerosos estudios cuyo objetivo era establecer las diferentes fuentes de obtención de CM, así como la definición de sus diversas propiedades según esa fuente. El origen de las CM mesenquimales influye en el tipo de célula que se desarrollará finalmente. Sin embargo, esto continúa siendo un asunto muy debatido, con notables discrepancias entre los autores.¹²

En estos estudios se han comparado las CM obtenidas a partir del tejido adiposo, de la médula ósea y del tejido sinovial estableciendo las ventajas y las desventajas de las mismas.

En cuanto a la capacidad de proliferación, Peng y su grupo de investigación establecieron que la mayor velocidad de crecimiento fue registrada en las CM derivadas del tejido adiposo que conseguían mantenerse hasta en 10 generaciones, mientras que las CM derivadas de la médula ósea y del cartílago presentaban una velocidad de crecimiento menor observando que las del cartílago presentaban senescencia a partir de la octava generación.³³

En 2017 Xu y colaboradores realizaron un estudio con el fin de comprobar la diferente capacidad de diferenciación hacia la estirpe osteogénica de las CM según el lugar de obtención. Este estudio concluyó que las que poseían la capacidad de diferenciarse más rápidamente y en mayores tasas fueron las CM derivadas de médula ósea, mientras que las derivadas de tejido adiposo tenían menor capacidad. Las CM derivadas del tejido sinovial poseían una capacidad intermedia entre ambas.³⁴

Yoshimura y su grupo de investigación compararon también los diferentes potenciales de diferenciación experimentando en modelos con ratas. En cuanto a la diferenciación condrogénica, las CM derivadas del tejido sinovial presentaron un mayor potencial, mientras que las derivadas del tejido adiposo son las que menos, situándose las derivadas de médula ósea entre ellas. Por otro lado, las CM derivadas del tejido adiposo poseen una mayor capacidad de diferenciación adipogénica, siendo mayor a la de las CM derivadas de médula ósea, aunque menor a las que derivaban de tejido sinovial.^{24 35}

Asimismo, parecen presentar diferencias en cuanto a su capacidad angiogénica. Las CM derivadas de MO presentaron una mayor producción de IGF-1 y VEGF con respecto a las demás, mientras que las CM derivadas del tejido sinovial demostraron una mayor producción de PDGF y HGF. A su vez, las CM derivadas de tejido adiposo produjeron en mayor cantidad B-FGF con respecto al resto. ³³

A priori, parece que las CM derivadas del tejido adiposo pueden tener un perfil desfavorable con respecto a las demás. Sin embargo, poseen una serie de características que las sitúan como una muy buena alternativa: hay un gran número de CM en relación con el volumen de muestra obtenido, el tejido adiposo es una fuente muy accesible (comparada por ejemplo con las derivadas de la MO, siendo el número de donantes mucho menor), el proceso de obtención es menos invasivo y doloroso, son células muy manipulables, poseen la mayor tasa de proliferación y sus telomerasas se ven menos influenciadas por la edad que las CM derivadas de médula ósea. ^{12 36}

En la figura 14 se exponen las principales ventajas y desventajas de las fuentes más utilizadas con respecto a su tejido de origen.

Tipo de CM	Diferenciación osteogénica	Diferenciación condrogénica	Diferenciación adipogénica	Ventajas	Desventajas
Derivadas de tejido adiposo	↓	↓	Medio	<ul style="list-style-type: none"> - Barato - Muy accesible - Obtención menos dolorosa - Tasa de proliferación <i>in vitro</i> muy alta - Aislamiento de gran cantidad de CM en comparación con otros tejidos 	<ul style="list-style-type: none"> - Potencial de diferenciación reducido - Imposibilidad de extracción en caso de lipodistrofia - Menos ensayos clínicos al respecto que en otros tejidos
Derivadas de médula ósea	↑	Medio	↓	<ul style="list-style-type: none"> - Facilidad de la extracción - Tasa de proliferación <i>in vitro</i> alta - Muchos ensayos clínicos al respecto - Capacidad de diferenciación osteogénica alta 	<ul style="list-style-type: none"> - Proceso de obtención es invasivo y doloroso - Pocos donantes
Derivadas de tejido sinovial	Medio	↑	↑	<ul style="list-style-type: none"> - Facilidad de la extracción - Alta capacidad de diferenciación condrogénica y adipogénica 	<ul style="list-style-type: none"> - Proceso de obtención invasivo - Requiere cultivo para expansión

Figura 14: Tabla comparativa de las CM mesenquimales según su origen (figura realizada por el autor)

3.2 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Diseño. He realizado una revisión sistemática de documentos, revisiones y estudios científicos sobre las células madre mesenquimales y sus aplicaciones terapéuticas, centrándome en las de la Traumatología.

Estrategia de búsqueda. Se ha realizado una búsqueda en *Pubmed*, *Medline* y *Web of Science* de artículos publicados por diferentes autores internacionales sobre las aplicaciones terapéuticas de las células madre mesenquimales. Esta búsqueda fue realizada en inglés, siendo las palabras clave: *mesenchymal stem cell, therapy, regeneration, cartilage, bone*. Se analizaron, a su vez, las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados con el fin de rescatar otros estudios relacionados con el tema.

Criterios de inclusión y exclusión. En la búsqueda se ha incluido todo tipo de artículos cuyo *abstract* y título se corresponden con el tema de esta revisión, excluyendo artículos de excesiva antigüedad (especialmente en las partes de aplicaciones terapéuticas).

Extracción de datos. Tras la búsqueda inicial de artículos que contuviesen las palabras "*Mesenchymal stem cell*" en el título se localizaron 22.742 publicaciones, de los que se seleccionaron 137. Para proceder a la selección se revisaron los resúmenes.

Análisis de datos. La información analizada se estructuró en dos partes: una primera parte sobre las propiedades biológicas y mecanismos de obtención de las células madre y una segunda sobre sus aplicaciones terapéuticas.

APLICACIONES TERAPÉUTICAS

4. APLICACIONES TERAPÉUTICAS

Las características biológicas de las CM mesenquimales han suscitado gran interés en la comunidad científica por sus posibles aplicaciones terapéuticas. Desde hace años se vienen realizando numerosos ensayos clínicos para tratar de implementar su uso en el tratamiento de diversas patologías.

El grupo de investigación de Rodríguez-Fuentes publicó en 2021 una revisión bibliográfica sobre las aplicaciones terapéuticas actuales de las CM mesenquimales y estableció que, en Junio de 2020, había registrados en *clinicaltrials.gov* alrededor de 1138 ensayos clínicos sobre las posibles aplicaciones terapéuticas de las CM mesenquimales. El primero comenzó en 1995, habiendo desde entonces un creciente interés, con el consiguiente aumento en el número de ensayos realizados. Entre 1995 y 2005 se realizaron 19. Entre 2006 y 2010 se efectuaron 159, mientras que entre 2011 y 2015 fueron 420. Por último, entre 2016 y 2020 se realizaron 490, con el número incrementando actualmente. En la figura 15 aparece representada esta progresión.³⁷

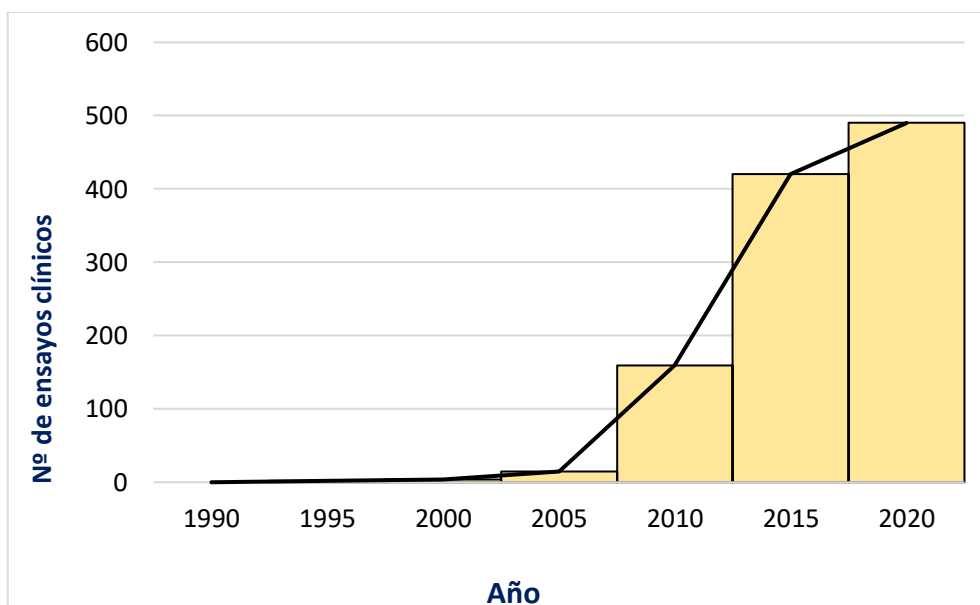


Figura 15: Progresión en el número de ensayos clínicos sobre CM mesenquimales realizados por año desde 1995 (figura realizada por el autor)

Estos ensayos clínicos investigan diferentes ramas de la Medicina, siendo las especialidades predominantes: Traumatología (25'9%), Neumología (11%), Neurología (10'7%), Cardiología (9'2%), Inmunología (8,6%), Hepatología (5'9%) y Dermatología (3,4%).

En cuanto a la distribución geográfica de los ensayos clínicos realizados, China se situó en primer lugar (25'2%), seguida de Estados Unidos (20'6%), situándose España en tercer lugar (7'6%), seguida de Corea del Sur (6'9%).³⁷

A continuación se establecerán las tendencias actuales sobre la aplicación de las CM mesenquimales en las diferentes especialidades médicas.

4.1 NEUROLOGÍA

En 2017 Kim y su grupo de investigación realizaron un estudio en ratones con lesiones medulares demostrando que las CM mesenquimales poseen la capacidad de reducir la formación de cicatrices y de promover la regeneración axonal³⁸. Asimismo, en 2012 Van Velthoven y colaboradores realizaron una revisión de la literatura existente estableciendo que las CM mesenquimales estimulan la angiogénesis y poseen un efecto neuroprotector por sus múltiples propiedades inmunomoduladoras³⁹. Si bien su uso no es generalizado, han demostrado su aplicación *in vitro* en numerosos ensayos y podrían aplicarse en tratamientos para traumatismos craneoencefálicos, esclerosis múltiple, ELA, enfermedad de Parkinson, ictus isquémico...¹²

4.2 CARDIOLOGÍA

Numerosas agresiones cardíacas, entre ellas la isquemia, son causa de necrosis miocárdica. El potencial de regeneración de este tejido es bajo, por lo que desde 2002 se estudió la posible aplicación de CM mesenquimales con el ensayo realizado por Toma y su grupo de investigación en el cual se demostró la diferenciación de CM a miocardiocitos cuando fueron transplantadas en ratones.⁴⁰

Las CM mesenquimales promueven la angiogénesis mediante la secreción de VEGF, lo cual contribuye a la regeneración vascular. Su acción paracrina ejerce un efecto protector sobre la remodelación cardíaca. Su capacidad para diferenciarse en cardiomiocitos permite la regeneración de células miocárdicas, las cuales son muy especializadas. Todo ello contribuye a la reparación cardíaca (representado en la figura 16). Por tanto, poseen una serie de propiedades biológicas que las convierten en una estrategia factible para el tratamiento del infarto de miocardio, la isquemia vascular periférica, la hipertensión pulmonar, y la cardiomiopatía dilatada. Hoy en día se continúa investigando sobre ello. ¹²

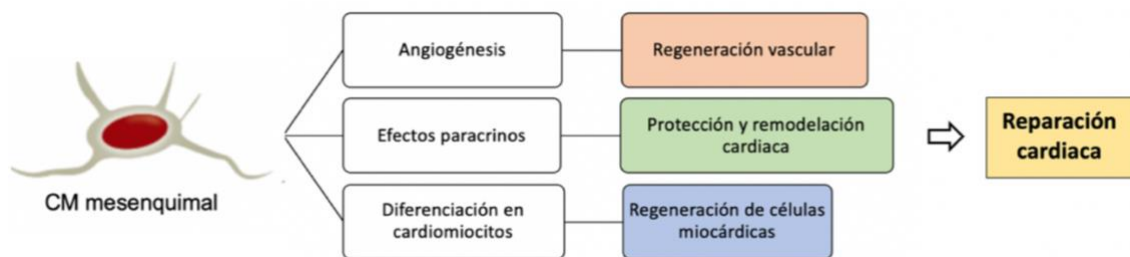
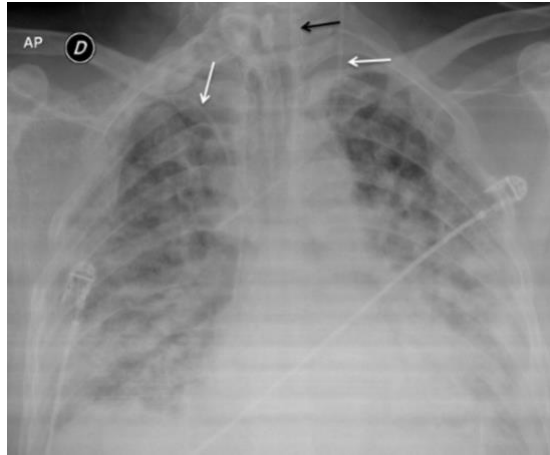


Figura 16: Mecanismos de las CM mesenquimales para la reparación miocárdica (figura realizada por el autor)

4.3 NEUMOLOGÍA

La mayoría de estudios se han centrado en el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA). Esta entidad está definida por 3 criterios: inicio agudo (en menos de 7 días), aparición de opacidades bilaterales compatibles con edema agudo de pulmón (EAP) en radiografía o TC de tórax y una relación $PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg. Esta enfermedad conlleva una elevada mortalidad (entre el 32 y el 61 %) ⁴¹. En la figura 17 se muestra la radiografía de tórax de un varón de 45 años con neumonía por COVID-19. En ella se observan múltiples áreas de consolidación confluentes difusas bilaterales que afectan extensamente a ambos pulmones. Las flechas blancas indican la presencia de dos vías venosas centrales, una yugular izquierda y otra subclavia derecha; mientras que la flecha negra muestra una sonda digestiva. ⁴²



*Figura 17: Radiografía de tórax de un paciente con neumonía por COVID-19*⁴²

Se han obtenido resultados satisfactorios mediante la aplicación de las vesículas extracelulares de las CM mesenquimales por las siguientes propiedades:

- Protegen al endotelio y epitelio alveolar: disminuyen la permeabilidad a proteínas y aumentan el aclaramiento del líquido alveolar (gracias a la producción de factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) y de angiopoyetina-1).
- Tienen efecto inmunomodulador y antiinflamatorio.
- Poseen actividad antimicrobiana (producen factores antimicrobianos como lipocalina 2 y aumentan la fagocitosis macrofágica y neutrofílica de bacterias)
- Son capaces de inhibir la fibrosis pulmonar tras el episodio agudo (al reducir el depósito de colágeno y la acumulación de miofibroblastos, reduciendo la formación de cicatrices).

Sin embargo, a pesar del gran potencial de las CM, la mayoría de estos resultados se obtuvieron de ensayos clínicos en fase I y II, por lo que serán necesarios más estudios.⁴³

Actualmente, el interés en esta entidad es creciente por la irrupción del COVID-19 en la práctica clínica. Las CM mesenquimales podrían constituir una alternativa terapéutica para pacientes con afectación pulmonar refractaria a los tratamientos habituales. En la figura 18 se representan los principales mecanismos por los que las CM mesenquimales podrían ser aplicados para el tratamiento del COVID-19: el gran potencial de inmunomodulación y de reparación y regeneración tisular. ⁴⁴

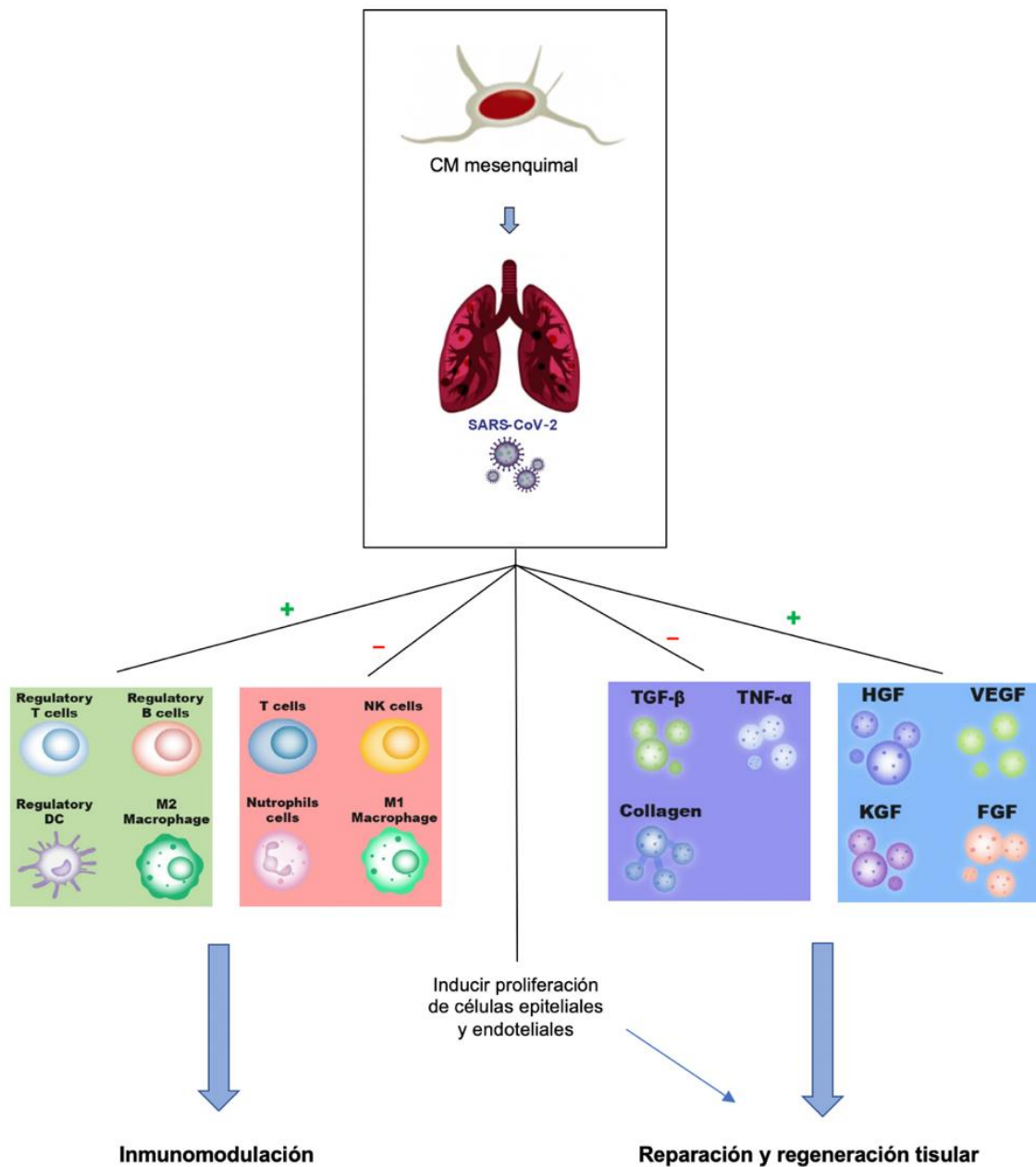


Figura 18: Potenciales mecanismos de las CM mesenquimales para el tratamiento de la COVID-19 (figura realizada por el autor).

4.4 OFTALMOLOGÍA

La córnea ejerce como barrera protectora y es responsable de gran parte del poder de refracción ocular. Está compuesta por tejido conectivo avascular. Debido a ser una barrera defensiva, puede comprometerse de forma severa en numerosas patologías. El tratamiento actualmente utilizado suele ser el trasplante corneal. Sin embargo, el rechazo inmunológico y la dificultad para encontrar donantes son importantes limitaciones. Numerosos estudios en los últimos años han destacado el papel de las exosomas de las CM mesenquimales (desempeñan la función paracrina) en la reconstrucción de la córnea. Sin embargo, han de realizarse más investigaciones para asegurar su eficacia y reproducibilidad en pacientes. ²¹

4.5 DERMATOLOGÍA

La piel es el órgano más extenso del organismo y constituye una barrera fundamental frente a rayos UV, patógenos y sustancias químicas. En los últimos años se han realizado una gran cantidad de estudios sobre la aplicación de las CM en:

- Alopecia: actualmente, para el tratamiento de la pérdida capilar se disponen de tratamientos médicos (*minoxidil, finasteride*) que no están obteniendo resultados plenamente satisfactorios en los pacientes; y del trasplante capilar, si bien es un procedimiento invasivo en el que la supervivencia del injerto depende en gran parte de la realización de una buena técnica quirúrgica. Por ello, recientemente se han realizado numerosos ensayos clínicos, entre ellos el de Narita y colaboradores efectuado en 2020 en el cual se evaluó la eficacia de las CM derivadas de tejido adiposo en 40 pacientes diagnosticados de alopecia (21 hombres y 19 mujeres). Se administraron mediante inyecciones intradérmicas mensuales durante 6 meses con controles periódicos. Se comprobó que había un incremento importante de densidad capilar, de folículos en anafase y de grosor dérmico en las regiones de cuero cabelludo tratadas ⁴⁵. Sin embargo, esta aplicación

se encuentra en fase inicial y requiere de más estudios pues existen ciertas limitaciones como las discrepancias en el proceso de obtención de los exosomas de las CM o su elevado precio. ⁴⁶

- Efecto anti-edad: los exosomas de las CM mesenquimales poseen una gran cantidad de mediadores que interfieren en el proceso de senescencia celular, muy relacionado con el envejecimiento.
- Curación de heridas: se han obtenido resultados prometedores en heridas producidas por traumatismos, quemaduras graves, úlceras diabéticas, epidermolisis bullosa o lesiones derivadas de la radiación. ⁴⁷

4.6 DIGESTIVO

Los estudios en esta materia son de gran importancia. Uno de los principales éxitos de la terapia celular en España fue dirigido por Damián García Olmo, actual jefe del Departamento de Cirugía y de la Unidad de Terapia Celular del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. La investigación comenzó en 2002 cuando trabajaba en el Hospital Universitario La Paz con pacientes con enfermedad de Crohn y fístulas perianales complejas. ⁴⁸

La investigación desarrollada fue la aplicación de CM derivadas de tejido adiposo para el tratamiento de estas fístulas complejas, cuyo manejo aparece esquematizado en la figura 19. Inicialmente debe administrarse antibioterapia (ciprofloxacino y metronidazol), fármacos anti-TNF (infliximab, adalimumab), azatioprina/6-mercaptopurina y la colocación de sedales. Si hay buena respuesta, se mantienen los fármacos anti-TNF y la azatioprina, pudiendo o no retirar el sedal individualizando en cada paciente. Se puede valorar el uso de células madre. En caso de que no haya respuesta, debe evaluarse la presencia o no de proctitis. Si la hubiera, puede optarse por el uso de células madre; si no estuviera presente, se pueden utilizar vedolizumab, ustekinumab y tacrolimus o recurrir a procedimientos quirúrgicos (estoma, proctectomía). ⁴⁹

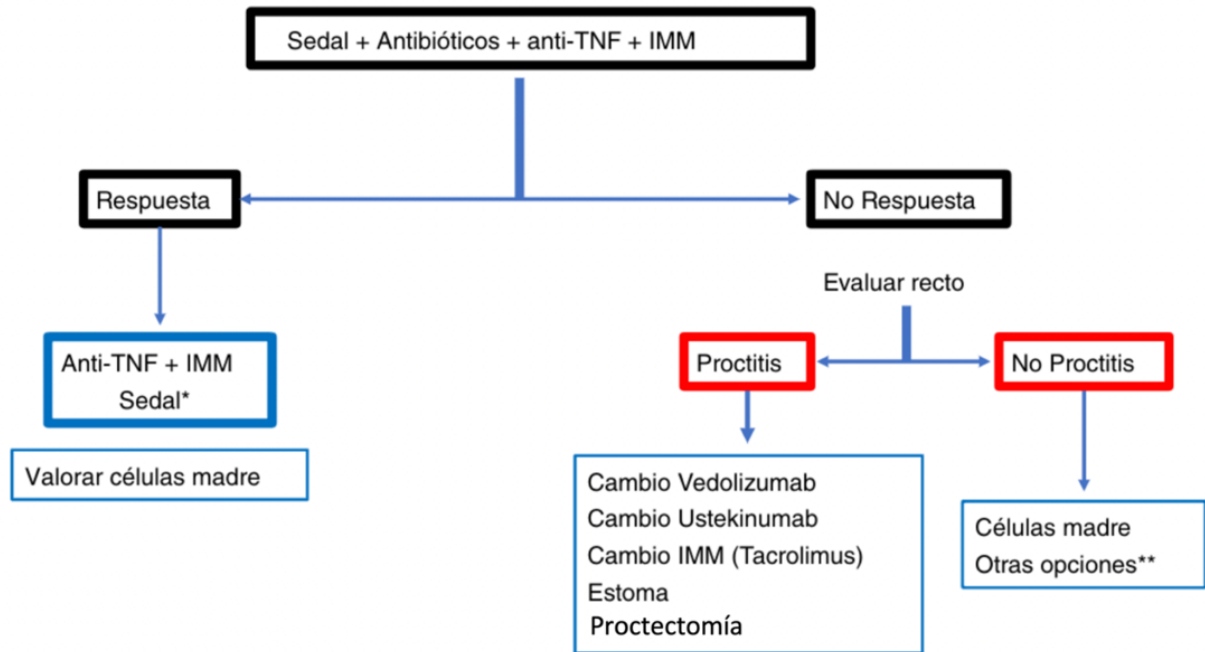


Figura 19: Tratamiento de las fístulas perianales complejas en enfermedad de Crohn ⁴⁹

Como se ha establecido, las CM forman parte de la práctica clínica habitual. El primer ensayo clínico aleatorizado y controlado con placebo fue realizado por Julián Panés (jefe del servicio de Gastroenterología del Hospital Clínic de Barcelona), García Olmo y su grupo de investigación. Fue publicado en *Lancet* en 2016. Se comparó la eficacia de la inyección simple de 120 millones de CM alogénicas derivadas de tejido adiposo (grupo A, 107 pacientes) frente a placebo (grupo B, 105 pacientes). El tratamiento fue exitoso en el 51'5% de los pacientes del grupo A, frente al 35'6% del grupo B. El beneficio se mantuvo en la semana 52 en el 56'3% de pacientes del grupo A, frente al 38'6% del grupo B. El efecto inmunomodulador de las CM es la base de su aplicación. ⁵⁰

La comercialización de este producto a base de CM derivadas de tejido adiposo de donantes se comercializó en 2018 con el nombre de darvadstrocel. Está indicado en pacientes con fístulas perianales complejas y diagnosticados de enfermedad de Crohn. Es la primera terapia con CM derivadas de tejido adiposo de donantes aprobada en Europa y el Estado español la sitúa entre las financiadas por la sanidad pública. ^{49 51}

A nivel **hepático**, numerosas entidades pueden llevar a insuficiencia hepática (cirrosis, hepatitis, CBP, etc) que con el tiempo dará lugar a daños irreversibles. El tratamiento más efectivo para estos casos es el trasplante hepático, pero posee evidentes complicaciones (rechazo y limitados donantes). Por ello, han adquirido importancia las CM mesenquimales. Wang y su grupo de colaboradores realizaron una revisión en 2019 observando que numerosos ensayos clínicos previos habían demostrado *in vitro* e *in vivo* que son capaces de reparar y regenerar tejido hepático, disminuyendo los efectos fibróticos y degenerativos.⁵²

4.7 TRAUMATOLOGÍA

Es la especialidad que, por el momento, posee la mayor aplicación de células madre. A su vez, es la que más ensayos clínicos registrados posee. Por tanto, será la que mayormente se desarrolle.

4.7.1 Reparación ósea

Necrosis avascular de cabeza femoral (NACF)

Se trata de una patología clínica incapacitante que se caracteriza por la necrosis de osteocitos y de médula ósea con la consiguiente destrucción progresiva de la estructura ósea. La vascularización de la cabeza femoral es precaria y principalmente mediada por la arteria femoral circunfleja medial.⁵³

Es relativamente frecuente, afectando mayoritariamente a adultos jóvenes entre la tercera y la quinta década de la vida. La **incidencia** anual en Estados Unidos oscila de 20.000 a 30.000 casos, lo que supone un 5-12% de todas las artroplastias totales de cadera.^{54 55}

La necrosis de cabeza femoral puede ser dividida según su etiología en traumática o no traumática (avascular). Con respecto a las atraumáticas, los factores de riesgo más importantes son la corticoterapia prolongada, el alcoholismo, el tabaquismo, la dislipemia, etc.⁵⁶

El **diagnóstico** ha de sospecharse con la clínica y exploración física. Suele presentarse con una clínica inflamatoria discreta, con limitación de la movilidad y dolor difuso progresivo. Asimismo, deben realizarse pruebas de imagen para visualizar la zona necrótica: radiografía simple y RM (de elección). Sin embargo, la ausencia de clínica importante y de signos radiográficos en fases iniciales hace que sea difícil su diagnóstico en fases tempranas.

Para la elaboración de un **plan terapéutico** adecuado es necesario realizar un estadiaje según la clasificación de Ficat que aparece reflejada en la figura 20. En las fases en las que no ha tenido lugar el colapso articular (Ficat I y II) el tratamiento de elección es la realización de perforaciones en la zona lesionada (forage descompresivo) para favorecer la síntesis ósea. A su vez, si se produce colapso articular (Ficat III y IV) el manejo consiste en realizar una artroplastia total de cadera.^{56 57}

Estadio	Radiografía	Tratamiento
I	Normal	Forage descompresivo
II	Áreas de remodelación (quistes y áreas esclerosas)	
III	Aplanamiento de la superficie articular	Artroplastia total de cadera
IV	Artrosis secundaria establecida	

Figura 20: Clasificación de Ficat de la necrosis avascular de cabeza femoral (figura realizada por el autor)

Perspectiva actual de la terapia con células madre:

Las aproximaciones terapéuticas actuales presentan ciertos problemas y limitaciones:

- 1) La fisiopatología del proceso de necrosis avascular de la cabeza femoral es desconocido. Intervienen numerosos factores que se superponen (traumatismos, corticoides, alcohol, metabolismo lipídico alterado, etc) y conllevan alteraciones en el aporte sanguíneo, a lo cual se suma una disminución del proceso osteoformador mediado por las células madre.
- 2) Es complicado realizar un diagnóstico precoz de esta patología pues no hay clínica importante en fases iniciales ni signos radiográficos llamativos. Por ello, la mayoría de pacientes son diagnosticados en etapas tardías cuando ya se evidencia un aplanamiento de la superficie articular, daño en el cartílago y artrosis.
- 3) La terapia más efectiva cuando el paciente se encuentra en estadios avanzados es la artoplastia total de cadera. Sin embargo, la edad de los pacientes suele ser entre los 30 y los 50 años por lo que hay importantes tasas de fallo de la prótesis.⁵⁸

En la NACF se produce un desbalance entre el proceso de osteonecrosis y reconstrucción ósea debido al insuficiente número de osteoblastos en la cabeza femoral. Actualmente, se considera que son muy importantes en este proceso las CM derivadas de médula ósea, observándose ciertos cambios en ellas: disminución de su potencial de diferenciación, aumento de la apoptosis, descenso en su capacidad de crecimiento y metabolismo alterado.⁵⁹

El objetivo terapéutico es detener la progresión de las lesiones, evitando en última instancia la cirugía protésica de cadera, indicada cuando el paciente se encuentre en estadios avanzados. Por ello es importante investigar nuevas estrategias terapéuticas que sean seguras y efectivas.⁵⁸

En este contexto, cuando el paciente se encuentre en estadios iniciales puede realizarse la descompresión del área necrótica tras lo cual pueden realizarse injertos óseos que contengan células madre. Esto es realizado, entre otros, en el Hospital Universitario Miguel Servet donde al llegar al diagnóstico de NACF en estadios iniciales se opta por un forage descompresivo con relleno de aloinjerto de esponjoso mezclado con aspirado de médula ósea de la cresta ilíaca (donde se encuentran las células madre).⁶⁰

Se han realizado numerosos ensayos clínicos aplicando esta técnica. Tabatabaee y colaboradores realizaron un estudio prospectivo y aleatorizado con 28 pacientes con NACF en estadios iniciales. 14 de ellos fueron tratados con BMAC tras el forage descompresivo (grupo A) mientras que a los 14 restantes se les realizó únicamente el forage descompresivo (grupo B). La edad media de los pacientes fue 29 años y no había diferencias significativas entre ellos. Se les siguió durante 2 años tras la intervención, observándose una importante mejora en la EVA (Escala Visual Analógica), en la WOMAC (*Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index*) y se evidenció la reparación de las áreas necróticas en la RM.⁶¹

Sen y su grupo de investigación realizaron un estudio similar con 40 pacientes. Se dividió en un grupo A y otro B con las mismas características que en el estudio anterior. Tanto la clínica como la supervivencia media de la cadera fue significativamente mayor en los pacientes que recibieron la combinación del forage descompresivo con el trasplante autólogo de células madre derivadas de médula ósea.⁶²

Ma y colaboradores llevaron a cabo un ensayo prospectivo, doble ciego y aleatorizado en el que incluyeron a 45 pacientes con NACF en estadios Ficat I-III. Había un grupo control (forage descompresivo combinado con injerto óseo autólogo) y otro experimental (mismo tratamiento que el grupo control, combinándolo con BMAC). El injerto óseo se muestra en la figura 21. Los pacientes fueron seguidos durante 2 años. Se observó una clara mejoría de la

clínica (escala EVA) y un enlentecimiento de la progresión de la enfermedad en el grupo experimental. ⁶³



Figura 21: Fragmento cilíndrico de hueso obtenido por un trépano y usado para el injerto en la cabeza femoral sometida a forage descompresivo. ⁵⁸

Pinilla-Gracia y su grupo de investigación, pertenecientes al Hospital Universitario Miguel Servet, publicaron en 2020 un ensayo clínico unicéntrico, prospectivo, no controlado con pacientes subsidiarios de cirugía de preservación de cadera. Los criterios de inclusión fueron: NACF en estadio de Ficat \leq III, etiología no traumática, estudio radiológico completo con RM previa a la cirugía, confirmación anatomopatológica lesional y seguimiento mínimo de un año. La muestra a estudio se constituyó de 26 caderas en 22 pacientes, con una edad media de 42,42 años. La técnica quirúrgica utilizada es el forage descompresivo asociado a relleno con aloinjerto de esponjosa mezclado con aspirado de médula ósea. Esto se lleva a cabo de forma protocolizada: mediante control radiológico se introduce una aguja guía en la zona lateral del fémur proximal y, a través de ella, se introduce una broca canulada de 5 mm de la zona articular. Con ayuda de una cucharilla de 5 mm de diámetro se origina un legrado de toda la zona necrosada. Posteriormente, se realiza el aspirado de médula ósea de la cresta ilíaca que se mezclará con un injerto de esponjosa ósea, introduciéndose todo ello en la zona perforada previamente, representado en la figura 22. ⁶⁰

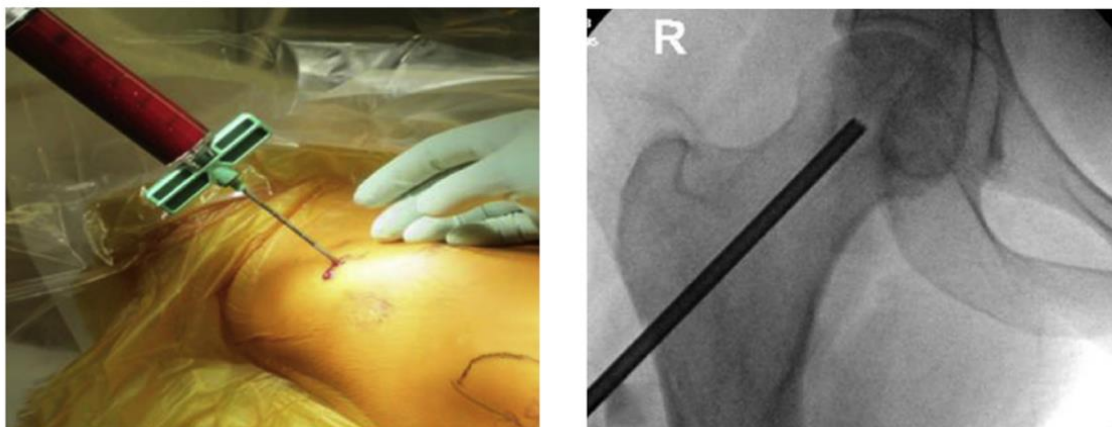


Figura 22: Tratamiento de la NACF A: Aspirado de médula ósea B: Implantación de las células madre junto a la esponjosa ósea en la zona sometida al forage descompresivo ⁵⁶

En la muestra, 16 de las 26 caderas intervenidas no precisaron de artroplastia primaria de cadera en su seguimiento; mientras que las 10 caderas restantes sí que lo necesitaron. Esto define una tasa de éxito del 61,5%, menor que en los otros estudios detallados (posiblemente debido a que un 69,2% de la muestra presentó un estadio medio-avanzado). ⁶⁰

Hay muchos ensayos que ponen en evidencia la utilidad de esta técnica, sin embargo, hay ciertos inconvenientes e incógnitas que deben seguir siendo sometidas a estudio: la falta de estudios estandarizados, la gran multitud de opciones terapéuticas con la consiguiente variabilidad en los resultados o la necesidad de entender mejor los mecanismos fisiopatológicos que intervienen. Así, son necesarios más estudios para establecer las fuentes ideales de células madre, los métodos adecuados para el injerto y el número óptimo de células que deben implantarse. ⁵⁸

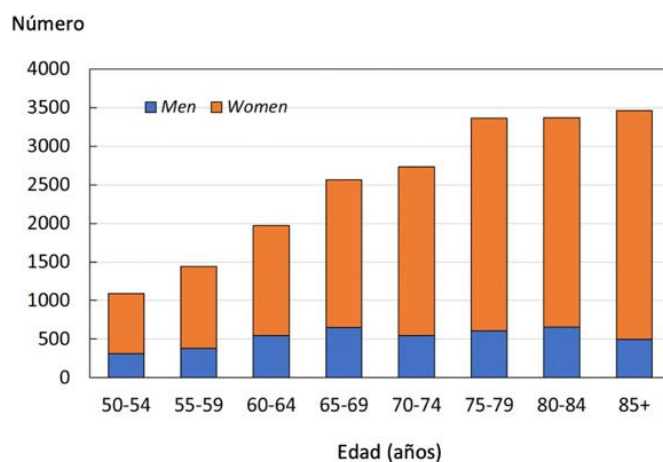
En conclusión, se trata de una terapia que actualmente se está realizando en muchos hospitales de España y del mundo, pero a pesar de ser prometedora y estar consiguiendo buenos resultados en su aplicación, son necesarios más estudios para lograr un nivel de evidencia óptimo y resolver las incógnitas actuales.

Osteoporosis

Se caracteriza por la disminución de la masa ósea y la alteración cualitativa del tejido óseo presente, lo que desemboca en la aparición de fracturas por aumento de la fragilidad esquelética. Es asintomática hasta la aparición de fracturas por fragilidad, principalmente a dos niveles: vértebras y cadera.

Epidemiología: se trata de la enfermedad metabólica ósea más frecuente (30-40% de todas las mujeres postmenopáusicas y casi la mitad de los mayores de 75 años).⁶⁴

En 2015, se estimó que 20 millones de personas tenían osteoporosis en la Unión Europea (teniendo en cuenta a Francia, Alemania, Italia, España, Suecia y Reino Unido). De ellos, 15'8 millones eran mujeres, mientras que 4'2 millones fueron hombres. A su vez, la prevalencia aumentó con la edad.⁶⁵ (figura 23)



*Figura 23: Prevalencia de osteoporosis en Europa ajustada por edad y sexo*⁶⁵

En cuanto a la **fisiopatología** de la osteoporosis, se produce por un balance negativo del proceso de remodelado óseo (representado en la figura 24), es decir, la resorción ósea (osteoclastos) supera a la formación (osteoblastos). Los osteoclastos se originan a partir de células hematopoyéticas de la línea monocito-macrófago de médula ósea, mientras que los osteoblastos se originan a partir de CM mesenquimales.^{66 67}

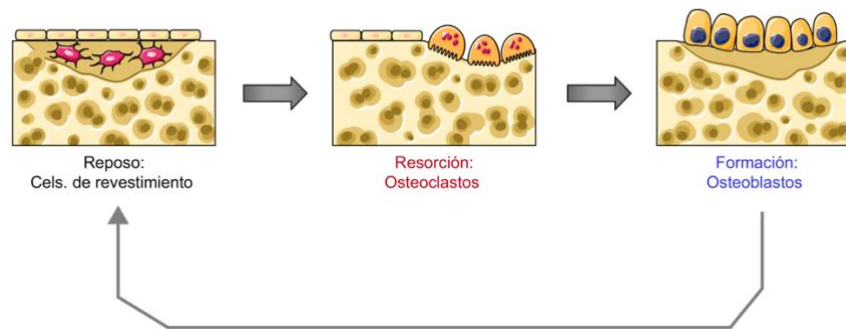


Figura 24: Esquema del proceso de remodelado óseo ⁶⁸

La **clínica** está ausente hasta que se producen fracturas como consecuencia de la debilidad ósea (fracturas por fragilidad). En la figura 25 se aprecia la microarquitectura ósea normal en la imagen de la izquierda, mientras que en la de la derecha se muestra el incremento de la porosidad y de la distancia intertrabecular. ⁶⁹

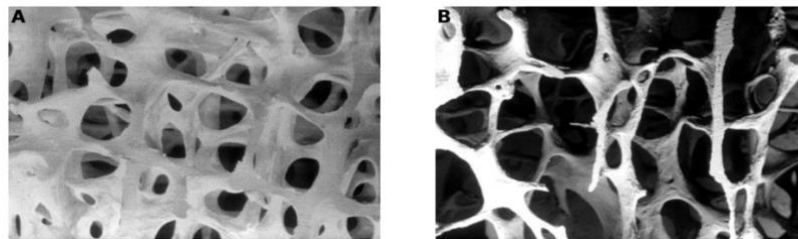


Figura 25: Microarquitectura ósea normal (izquierda) y de un paciente osteoporótico (derecha) ⁶⁹

Para el **diagnóstico** es muy útil la realización de una densitometría ósea (DMO), considerándose como puntos de corte (representado en la figura 26):

- <-2,5 DE: osteoporosis.
- -1 a -2,5 DE: osteopenia. ⁷⁰

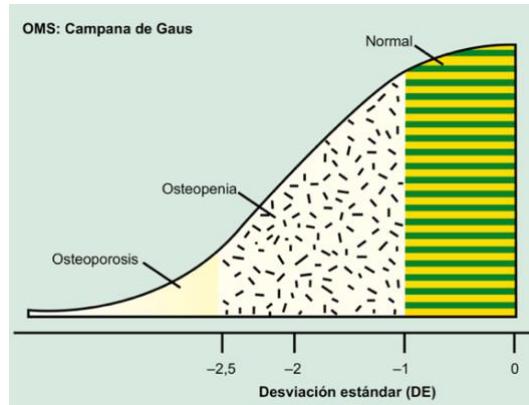


Figura 26: Valores definitorios de osteopenia y osteoporosis de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) ⁷⁰

Tratamiento actual

1. Medidas no farmacológicas: contribuyen a la prevención de osteoporosis, y entre ellas podemos destacar el ejercicio físico, la ingesta adecuada de productos con calcio, la exposición solar adecuada y la evitación de hábitos tóxicos. ⁷¹
2. Administración adecuada de calcio y vitamina D: el calcio se administrará preferentemente en forma de alimento (dosis diaria adecuada 1-2 g), y si no se alcanzan los niveles adecuados, en suplementos farmacológicos. ⁷²
3. Terapia farmacológica específica: actúan a dos niveles (osteoformador o antirresortivo):
 - Bifosfonatos (alendronato, risedronato, zoledronato): constituyen la primera línea de tratamiento. Inhiben la resorción ósea. Están contraindicados en pacientes cuyo filtrado glomerular es <35 ml/min. Como efectos adversos, debemos destacar los gastrointestinales (esofagitis, apareciendo en las formas de administración oral), la osteonecrosis de mandíbula (1/100.000 pacientes/año de tratamiento) y las fracturas de fémur subtrocantéreas atípicas (<30 casos/100.000 pacientes/año de tratamiento).

- Denosumab: anticuerpo monoclonal humano que se dirige contra RANK-ligando, impidiendo la resorción ósea gracias a la inhibición que ejerce sobre los osteoclastos. Por ello, tienen efectos adversos similares a los bifosfonatos, pero a diferencia de ellos la vía de administración es subcutánea (útil en pacientes con esofagitis o problemas digestivos) y pueden utilizarse en pacientes con insuficiencia renal.
- Modificadores selectivos de los receptores estrogénicos (SERM): raloxifeno, tamoxifeno, bazedoxifeno. Estos fármacos poseen indicación muy estricta en mujeres postmenopáusicas jóvenes (<60 años) con osteoporosis leve en columna. ⁷³
- PTH recombinante humana (teriparatide): se administra por vía subcutánea durante 2 años. Su efecto es osteoformador (anabólico). Por ello, está indicada en osteoporosis muy severas: pacientes con dos o más fracturas vertebrales. Pueden generar hipercalcemia, por lo que deberán realizarse controles periódicos. ⁷⁴
- Tiazidas: indicadas en pacientes con osteoporosis e hipercalciuria, pues reducen la excreción urinaria de calcio. Así, han demostrado aumentar la masa ósea y reducir la prevalencia de fracturas. ^{75 70 76}

Perspectiva actual de la terapia con células madre:

Como se ha mencionado anteriormente, el tratamiento actual de la osteoporosis es predominantemente farmacológico, siendo a su vez la terapia no farmacológica importante (ejercicio físico). El objetivo de estas terapias es el fortalecimiento del hueso, con la consiguiente reducción del riesgo de fracturas. Sin embargo, no son medidas totalmente efectivas en todos los pacientes y poseen notables efectos secundarios que comprometen su uso a largo plazo. Por ello, es necesaria la búsqueda de nuevos enfoques terapéuticos que posean menos efectos secundarios para el tratamiento de la osteoporosis. En este

contexto, la medicina regenerativa podría tener un papel fundamental. Durante los últimos años ha habido un creciente interés por las terapias basadas en el uso de células madre mesenquimales.^{77 78}

La terapia basada en CM se fundamenta en la modulación de la resorción ósea, la reducción del riesgo de fracturas, el aumento de la densidad ósea y la disminución de la inflamación. Esto es posible gracias al aumento de CM progenitoras y a la mejora de la función de las mismas (proliferación y diferenciación osteoblástica).^{79 80 81}

En los individuos sanos, la cantidad de CM mesenquimales en la médula ósea es muy pequeña (0,01% - 0,001%), siendo incluso menor con el envejecimiento. Si además de ello, estas CM mesenquimales pierden la capacidad de proliferar correctamente y la diferenciación predominante es hacia adipocitos, el proceso de formación ósea puede verse muy afectado, con el consiguiente riesgo de desarrollar osteoporosis.^{82 83 84}

Numerosos estudios han comparado las CM mesenquimales de pacientes con osteoporosis con las de individuos control. Las CM mesenquimales de mujeres con osteoporosis presentaban una tasa de proliferación menor que las de los controles⁸⁵. No obstante, en las CM mesenquimales de sujetos enfermos se observó un descenso de producción de TGF- β y una menor capacidad para sintetizar y mantener la matriz extracelular rica en colágeno I⁸⁶. Asimismo, se observaron unos rangos de depósito de calcio disminuidos bajo condiciones de diferenciación osteogénica y un descenso de una gran cantidad de reguladores (factores de transcripción, Osx) necesarios para la diferenciación osteoblástica^{87 88}. Esto conlleva una mayor diferenciación adipogénica.⁸⁸

Es fundamental clarificar el papel terapéutico y las posibles aplicaciones de las CM en la osteoporosis. Han sido realizados estudios en modelos animales, predominantemente con ratones, mediante la inyección de CM derivadas de médula ósea tanto autóloga como alogénica. Ichioka y colaboradores realizaron un estudio en el que inyectaron CM mesenquimales a ratones, observándose un aumento de hueso trabecular y un descenso en la pérdida de DMO⁸⁹. Wang y su grupo de investigación realizaron el trasplante autólogo de CM

mesenquimales derivadas de la médula ósea en el fémur distal de conejos con osteoporosis inducida a través de la ovariectomía. En ellos se observó una mejora en la microestructura ósea, con aumento del hueso trabecular ⁹⁰. Kim y colaboradores demostraron una disminución de la formación de osteoclastos a través del trasplante de CM intraperitoneales en ratas ovariectomizadas ⁹¹. Así, en gran parte de los ensayos que fueron realizados con posterioridad se observaron resultados similares, observándose mejoría en la microestructura ósea. ^{92 93 94}

Estos estudios también se han realizado con CM derivadas del tejido adiposo. Ensayos como el de Cho y colaboradores (con ratones) o el de Ye y su grupo de investigación (con conejos) demostraron que la inyección de estas CM provocaba un aumento de la osteogénesis, con la consiguiente disminución de la adipogénesis. ^{95 96}

Asimismo, las propiedades inmunomoduladoras de las CM mesenquimales las hacen capaces de regular la respuesta inmune innata y adaptativa, regulando la función de linfocitos B, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y macrófagos. La secreción de numerosos factores (IL-10, TGF- β 1, PGE-2, HGF) es el mecanismo responsable de que las CM consigan disminuir la inflamación, interfiriendo en el proceso etiopatogénico de la osteoporosis. ^{97 98}

La terapia con células madre se ha postulado como una buena alternativa para el tratamiento de la osteoporosis en los numerosos ensayos preclínicos que se han realizado, con buenos resultados de las CM derivadas tanto de médula ósea como de tejido adiposo y de forma local o sistémica. Sin embargo, los ensayos clínicos tan sólo acaban de comenzar y no hay resultados consistentes con humanos en este momento. Por ello, hay una gran cantidad de ensayos realizándose en este momento que tratarán de dilucidar el papel terapéutico de las CM, sabiendo que aún quedan incógnitas por resolver: la supervivencia a largo plazo de las CM, el destino de las CM después del trasplante y la capacidad de la MO para alojar a las CM. En este sentido, las modificaciones de los genes o de los factores externos de las CM mesenquimales podrían suponer una mejora de las propiedades de las CM, solucionando los problemas antes

descritos. Por ello, los esfuerzos en investigación se dirigirán en este sentido durante los siguientes años.^{99 100 101}

Fracturas y trastornos de la consolidación (pseudoartrosis)

La **pseudoartrosis** puede ser definida como la ausencia de consolidación de una fractura tras 9 meses desde la misma, que no se modificará salvo que se actúe de forma externa. Se forma una nueva articulación patológica con movimiento patológico local. El tratamiento de la ausencia de consolidación de una fractura es quirúrgico. Para las fracturas, dependiendo de la localización, gravedad y características de las mismas, optaremos por tratamiento conservador (inmovilización) o quirúrgico.¹⁰²

En este contexto, las **células madre** podrían constituir una opción terapéutica útil por su capacidad de diferenciación y sus propiedades inmunomoduladoras. Han sido realizados varios ensayos clínicos durante los últimos años:

Teniendo en cuenta que los trastornos de consolidación son más prevalentes en las fracturas de huesos largos, especialmente en el tercio distal tibial, Liebergall y su grupo de investigación realizaron un estudio prospectivo en 24 pacientes (12 de ellos en el grupo control y los otros 12 en el grupo experimental) con este tipo de fractura. Todos los pacientes fueron tratados quirúrgicamente con clavos intramedulares o placas de osteosíntesis. Además, en el grupo experimental se administró plasma rico en plaquetas junto a CM derivadas de médula ósea de forma percutánea en el lugar de la fractura. En el seguimiento que se realizó de forma periódica durante 12 meses, se observó que en todos los pacientes del grupo experimental la fractura había consolidado adecuadamente, mientras que en el grupo control 3 de los pacientes presentaron retraso en la consolidación. A su vez, el tiempo de consolidación se redujo de 3 a 1,5 meses en el grupo experimental.¹⁰³

Gianotti y su grupo científico realizaron la comunicación de una serie de casos de 8 pacientes con pseudoartrosis de fracturas de la extremidad superior. En todos ellos se realizó una aspiración de médula ósea en cresta ilíaca para obtener células madre y cultivarlas. Posteriormente, se realizó la osteosíntesis de la fractura no consolidada con placas y clavos, administrando también las células madre expandidas. No hubo efectos adversos y se constató un correcto proceso de formación ósea en todos los casos en una media de 6 meses, restableciéndose la correcta función del hueso. ^{104 105}

Bajada y colaboradores comunicaron el caso de un varón de 34 años que sufrió una fractura tibial izquierda debido a un accidente de tráfico. Inicialmente se le trató con clavos intramedulares. Sin embargo, durante el seguimiento se constató dolor, impotencia funcional y ausencia de consolidación durante más de un año por lo que se decidió volver a intervenir dos veces utilizando diferentes técnicas (fijación externa) sin mejoría. Se acordó con el paciente la administración de CM derivadas de médula ósea combinadas con esferas de fosfato cálcico, todo ello administrado en el lugar de la fractura y cubierto con periostio. A las 8 semanas del procedimiento, la consolidación ósea se consiguió y se produjo una mejoría sintomática. A los 2 años del tratamiento, la mejoría funcional del paciente era evidente. ¹⁰⁶

Marcacci y su grupo de investigación realizaron un ensayo con 4 pacientes con fracturas de huesos largos (tibia, húmero y cúbito) que tuvieron diversos problemas en la reparación ósea en el postoperatorio. Se les administraron cilindros cerámicos de hidroxiapatita con CM derivadas de médula ósea que se cultivaron durante 3 semanas. La consolidación ósea se consiguió de forma completa durante los 2 primeros años tras el tratamiento, al igual que la mejoría funcional. ¹⁰⁷

En conclusión, el tratamiento de elección para los defectos de huesos largos y los trastornos de consolidación es el quirúrgico (injerto óseo autólogo). Sin embargo, actualmente existen nuevas y prometedoras alternativas con biomateriales que se combinan con células madre, pero no se sabe lo suficiente en cuanto a ellas pues no hay evidencia científica suficiente. Hay mucha heterogeneidad de unos estudios a otros, la mayoría son comunicaciones de

casos y no ensayos prospectivos controlados, es un proceso caro (especialmente si se cultivan las CM), etc. ¹⁰⁸

4.7.2 Reparación de tendones, ligamentos y meniscos

Se trata de estructuras cuyas patologías (rotura, degeneración) son muy prevalentes actualmente, tanto por el intenso esfuerzo mecánico al que están sometidas, como por su precaria vascularización haciéndolas especialmente propensas a sufrir procesos degenerativos. Los ensayos clínicos se han centrado especialmente en: ligamento cruzado anterior, meniscos y tendón del manguito de los rotadores.

El tratamiento actual para las patologías de estas estructuras suele ser, en dependencia del grado de lesión, conservador (mediante reposo, antiinflamatorios, analgésicos e infiltraciones locales) o quirúrgico. Sin embargo, estas terapias no son muy efectivas: rara vez consiguen que el paciente tenga una calidad tisular similar a la previa, hay un riesgo elevado de que las lesiones vuelvan a aparecer y de que el tejido sufra cambios degenerativos. ^{109 110}

Rupturas tendinosas

Una de las patologías de las que más ensayos se están realizando es la **rotura del manguito de los rotadores**. Por ello, dentro de las rupturas tendinosas, será en la que nos centraremos. Kim y su grupo de investigación realizaron un ensayo con 70 pacientes con esta patología. Se dividieron en un grupo A (tratados con reparación artroscópica del tendón) y en un grupo B (tratados con reparación artroscópica del manguito en combinación con inyección de células madre autólogas derivadas de tejido adiposo). Se observó que en términos de dolor y amplitud de movimientos no hubo diferencias significativas entre ambos grupos. Sin embargo, a través de RM se observó que un 14,3% de los pacientes del grupo B tuvieron un desgarro de nuevo; mientras que en el grupo A hubo un 28,5%. ¹¹¹

Hernigou y colaboradores realizaron un estudio de cohortes similar al anterior con 90 pacientes con rotura sintomática del manguito de los rotadores. A 45 de ellos se les reparó el tendón mediante artroscopia, mientras que a los otros 45 se les añadió además BMAC en el sitio de la lesión. Se realizó un seguimiento durante 10 años, observando que el manguito de los rotadores seguía intacto en un 87% de los pacientes tratados con BMAC; mientras que en el grupo control tan sólo en un 44%. A su vez, se correlacionó el número de células implantadas con la rapidez de curación y las tasas de fallo de la reparación artroscópica. El autor concluyó que había claros beneficios en la administración de BMAC en el transcurso de la reparación quirúrgica del manguito de los rotadores. ¹¹²

Lesiones de ligamentos

Otra patología en la que hay un creciente interés debido a su prevalencia es la **rotura del ligamento cruzado anterior (LCA)**. Se han obtenido resultados satisfactorios en la aplicación de CM en modelos animales con esta patología. Entre ellos destaca el llevado a cabo por Oe y su grupo de investigación, los cuales observaron una mejora significativa en la histología y biomecánica cuando administraron BMAC o CM mesenquimales cultivadas en ratas con rotura parcial del ligamento cruzado anterior y comparándolas con un grupo control. ¹¹³

A su vez, se han realizado ensayos clínicos en humanos. La mayoría comenzaron a partir de 2017 por lo que no hay demasiadas referencias. Wang y colaboradores realizaron un ensayo doble ciego aleatorizado en 17 pacientes con patología unilateral del LCA que eran candidatos a reconstrucción del mismo en los 6 meses posteriores a la lesión. En el grupo A, constituido por 11 pacientes, se administraron de forma intraarticular 75 millones de células madre mesenquimales junto a ácido hialurónico. En el grupo B, formado por 6 pacientes, se administró ácido hialurónico únicamente. Se realizó un seguimiento de 2 años, observándose en el grupo A una significativa mejora del índice KOOS (*Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score*), del dolor y un

menor estrechamiento del espacio articular lateral tibiofemoral con respecto al grupo B. No se observaron efectos adversos. ¹¹⁴

Lesiones meniscales

Las roturas o desgarros del menisco suelen ocurrir de forma aguda (etiología traumática) o crónica (proceso degenerativo). El potencial reparador del menisco roto depende del lugar en el que el desgarró haya tenido lugar. Se describen tres zonas dependiendo de su vascularización que aparecen reflejadas en la figura 27: interna (avascular, zona blanca-blanca), externa (bien vascularizada, zona roja-roja) y media (grado intermedio de vascularización, zona roja-blanca). La zona interna será la de menor potencial regenerador por su precaria vascularización. ¹¹⁵

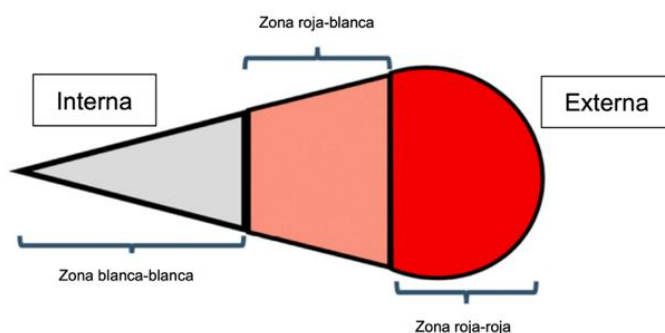


Figura 27: Esquema de las distintas zonas de vascularización en corte transversal del menisco ¹¹⁵

Esto influye en el tratamiento a utilizar. La sutura meniscal está especialmente indicada en pacientes jóvenes, tiene mejores resultados a largo plazo, pero si la zona afectada es la blanca-blanca no cicatrizará. La otra opción es la meniscectomía, normalmente parcial, por vía artroscópica ¹¹⁶. El proceso de reparación del menisco puede verse ayudado por numerosos factores: buena vascularización, factores de crecimiento, etc. A ello puede sumarse la utilización de células madre mesenquimales ¹¹⁷. Han sido realizados numerosos ensayos preclínicos, entre ellos el de Nakagawa y colaboradores que combinaron la sutura de la lesión meniscal con la administración de CM mesenquimales derivadas del tejido sinovial alogénicas en modelos porcinos. A pesar de que el

seguimiento fue de 12 semanas, objetivaron resultados superiores con respecto al grupo control (tan sólo se les practicó sutura meniscal): mejores índices histológicos, mayor deposición de colágeno y fuerza incrementada. ¹¹⁸

Asimismo, se han realizado varios ensayos clínicos utilizando CM, aunque su cantidad y evidencia es limitada. Vangsness y su grupo de investigación realizaron un ensayo aleatorio doble-ciego controlado en el que se estudió el efecto de la administración intraarticular de CM mesenquimales tras la meniscectomía medial. Constaba de 55 pacientes divididos en 3 grupos: A (recibió 50×10^6 CM), B (recibió 150×10^6 CM) y el C o control (sólo se les realizó meniscectomía medial). En el grupo A y B se observó una mejora significativa en el dolor y aumento del volumen meniscal en RM con respecto al grupo control.

119

Sekiya y su grupo científico comunicaron 5 casos de pacientes que poseían lesiones degenerativas en el menisco medial. Estas lesiones se confirmaron mediante artroscopia, en la cual el menisco se suturó y se tomaron biopsias de tejido sinovial. Se cultivó y expandió el tejido sinovial durante 14 días. Se repitió la artroscopia y se administró una suspensión de CM mesenquimales en el lugar de la lesión. Los pacientes fueron seguidos durante 2 años objetivando mejoría sintomática y la ausencia de desgarros en el sitio tratado mediante RM. ¹²⁰

Pak y colaboradores comunicaron el caso de un paciente con un desgarro meniscal aislado al que se le administró intraarticularmente CM derivadas de tejido adiposo autólogas combinadas con ácido hialurónico y plasma rico en plaquetas. Se le siguió durante 18 meses objetivando mejoría importante en el dolor y funcionalidad. La RM demostró la resolución prácticamente completa del desgarro. Previamente a este tratamiento, el paciente no obtuvo mejoría con la administración repetida de ácido hialurónico y plasma rico en plaquetas. ¹²¹

En resumen, la medicina regenerativa sigue evolucionando y la investigación también. No hay evidencia suficiente como para estandarizar estos tratamientos para las patologías meniscales, tendinosas y ligamentosas a pesar de los buenos resultados preclínicos y clínicos llevados a cabo. Siguen

quedando muchas incógnitas por resolver (dosis óptima, perfil de paciente idóneo, etc.) a lo cual se suma la escasez de ensayos si lo comparamos con otras aplicaciones, la heterogeneidad de los mismos, el limitado tiempo de seguimiento y su compleja extrapolación a la práctica clínica habitual. Son terapias novedosas y muy prometedoras que requerirán de más estudio en el futuro. ¹¹⁵

4.7.3 Reparación de cartílago

Artrosis

Es la forma más frecuente de enfermedad articular y la principal causa de incapacidad del anciano. En 2017 afectaba a 303 millones de personas globalmente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que aproximadamente el 10% de la población masculina y el 18% de la femenina mayores de 60 años tienen clínica de artrosis. ¹²²

James y su grupo de investigación publicaron en *Lancet* en 2018 una revisión sobre la carga global de 354 patologías en 195 países entre los años 1990 y 2017. Este estudio situó a las enfermedades musculoesqueléticas como la primera causa de años vividos con discapacidad (AVD). El 7'1% de la carga de enfermedad se debió a la artrosis, la cual experimentó un notable aumento desde 1990 (de 1990 a 2007 aumentó un 63,1% y de 2007 a 2017 se elevó un 31'4). ¹²³

La **fisiopatología** de esta entidad tiene distintas etapas: reblandecimiento focal de superficies cartilaginosas, fisuras superficiales, destrucción del cartílago y remodelación del hueso subcondral (osteosclerosis y formación de osteofitos)

El **diagnóstico** está basado en la clínica del paciente y en los hallazgos radiológicos. En la figura 27 se muestra una radiografía anteroposterior de rodilla de un paciente con artrosis en la que hay disminución del espacio articular (flechas negras) y presencia de osteofitos (flechas blancas) ¹²⁴



Figura 27: Radiografía anteroposterior de la rodilla de un paciente con artrosis ¹²⁴

El **tratamiento** actual está dirigido al alivio sintomático y a la conservación de la función articular. Siempre tiene en el escalón inicial el abordaje conservador: reducción del sobrepeso, la supresión de actividades físicas excesivas y la fisioterapia. ¹²⁵

Posteriormente, el primer fármaco a utilizar es el paracetamol, seguido de los AINE en caso de que no haya respuesta. Posteriormente, estaría indicado el tratamiento con opiáceos menores (tramadol). En el siguiente escalón se situaría el uso de fármacos intraarticulares. En este sentido, la inyección intraarticular de glucocorticoides se ha relacionado con una mejoría sintomática. En caso de no respuesta, se pueden realizar infiltraciones de ácido hialurónico o de plasma rico en plaquetas que también producen alivio sintomático.

El último escalón es el tratamiento quirúrgico. Debe plantearse ante el fracaso del tratamiento conservador durante al menos 6 meses y si el paciente continúa con limitación funcional. La artroplastia es un procedimiento seguro y con buenos resultados funcionales. Sin embargo, la artroplastia de cadera o de rodilla no está exenta de complicaciones: riesgo de infección del 2% y de necesidad de recambio del 3-5% a los 10 años. ^{126 127}

Perspectiva actual de la terapia con células madre:

Las medidas terapéuticas conservadoras actuales (ejercicio físico, fisioterapia, pérdida de peso, analgésicos e inyecciones intraarticulares) están destinadas a la mejoría sintomática del paciente y a mejorar la función articular, sin intervenir en el proceso etiopatogénico. La única alternativa terapéutica actual a las medidas conservadoras es la artroplastia. Por tanto, es necesaria la búsqueda de nuevas medidas terapéuticas conservadoras que nos permiten el abordaje de la degeneración cartilaginosa propia de la artrosis, especialmente en pacientes jóvenes (pues la supervivencia protésica puede verse comprometida por la vida más activa de este perfil de paciente). ¹²⁸

La mayoría de estudios se centran en las lesiones a nivel de la rodilla. Koh y su grupo de investigación realizaron un ensayo con 44 pacientes con artrosis de rodilla. Uno de los grupos recibió plasma rico en plaquetas (PRP) intraarticular, mientras que el otro recibió PRP combinado con SVF. En este segundo grupo, el dolor había mejorado y mediante una artroscopia de control se observaron mayores tasas de curación del cartílago articular. ¹²⁹

Vega y su grupo científico realizaron un ensayo con 30 pacientes con artrosis. A la mitad de ellos se les administraron CM derivadas de médula ósea, mientras que en el grupo control se instiló ácido hialurónico. En el grupo de las CM se observó una mejoría significativa del dolor y la morfología del cartílago por RM. ¹³⁰

Lamo-Espinosa y colaboradores realizaron un estudio aleatorio con 30 pacientes con artrosis de rodilla en 3 grupos: A (inyección intraarticular de ácido hialurónico), B (inyección de CM derivadas de MO en dosis bajas) y C (administración de CM derivadas de MO en dosis altas). El grupo A no obtuvo prácticamente mejoría, mientras que el B y el C obtuvieron mejoría sintomática y del índice WOMAC, así como un mayor rango de movimiento y mayor rapidez de recuperación, especialmente en el grupo de dosis altas. ¹³¹

Jo y colaboradores dividieron a 9 pacientes con artrosis de rodilla en 3 grupos a los que administraron de forma intraarticular CM derivadas de tejido adiposo autólogas: grupo A (dosis baja de CM: 1×10^7 CM), B (dosis media: $5 \times$

10⁷ CM) y C (dosis alta: 1 x 10⁸ CM). En el seguimiento a los dos años, el índice WOMAC y el dolor mejoraron significativamente en el grupo C con respecto a los otros. ¹³²

Gupta y su grupo de investigación realizaron un ensayo controlado con placebo en pacientes con artrosis de rodilla a los que trataron con CM derivadas de MO. El dolor disminuyó significativamente en el grupo que recibió CM, mientras que la RM y la radiografía no mostraron cambios relevantes. ¹³³

Otros estudios similares como los de Emadedin y su grupo de investigación¹³⁴ , Chahal y colaboradores¹³⁵ o Soler y su grupo científico obtuvieron resultados similares. ¹³⁶

Al igual que en las otras aplicaciones, se trata de prometedoras terapias que necesitan ensayos clínicos estandarizados, con dosis similares de CM, mismo perfil de pacientes y seguimientos más largos. ¹³⁷

Hoy en día no hay evidencia científica suficiente para estandarizar y generalizar su uso en patologías traumatológicas, sin embargo, en nuestros se están aplicando para el tratamiento de necrosis avascular de cabeza femoral predominantemente. Son terapias prometedoras que se usan en algunos centros y en determinados pacientes, sin embargo, no hay evidencia suficiente y se deberá seguir investigando para lograr que estas prometedoras terapias puedan formar parte de la práctica clínica habitual.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

1. Las células madre embrionarias poseen un alto potencial proliferativo y una gran plasticidad, pero debido a los numerosos problemas éticos en su manipulación, la mayoría de las células usadas actualmente son células madre mesenquimales.
2. El método tradicional de obtención de células madre desde médula ósea sigue siendo hoy en día el más utilizado, porque presenta una tasa de proliferación *in vitro* alta y una capacidad de diferenciación osteogénica elevada, pero con los inconvenientes de ser dolorosa y la escasez de donantes.
3. La obtención de células madre desde la sangre del cordón umbilical, tejido sinovial y tejido adiposo son hoy en día las más novedosas, siendo esta última la que presenta mayores tasas de proliferación *in vitro*.
4. La diferenciación hacia adipocitos y condrocitos es máxima cuando se utilizan células madre obtenidas del tejido sinovial, pero se requiere cultivos celulares para su expansión.
5. Las últimas tendencias para conseguir crecimiento *in vitro* de células madre, requieren medios de cultivo DMEM con STF al 10% y suplementos de β -glicerofosfato para obtener osteoblastos y factor de crecimiento transformante β 1 y 3 para condroblastos.
6. Las células madre actúan como reguladoras del sistema inmune, son antiapoptóticas y proliferativas aumentando el factor de crecimiento insulínico 1 y promoviendo la neovascularización.
7. La necrosis avascular de cabeza femoral es la patología traumatológica donde más se ha generalizado la terapia con células madre mesenquimales, siendo utilizada en el Hospital Miguel Servet.

8. Las terapias con células madre están siendo aplicadas hoy en día con unos resultados muy satisfactorios y de cara al futuro va a ser necesario realizar un gran número de ensayos clínicos, con seguimientos prolongados para estandarizar muy bien los criterios de extracción y aplicación de las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Mata-Miranda M, Vázquez-Zapién G, Sánchez-Monroy V. Generalidades y aplicaciones de las células madre. *Perinatol Reprod Hum*. 2013;27(3):194–9.
2. Kolios G, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*. 2013;85(1):3–10.
3. Costa C, Comabella M, Montalban X. Tratamiento de enfermedades neurológicas basado en células madre. *Med Clin (Barc)*. 2012;139(5):208–14.
4. Guadix JA, Zugaza JL, Gálvez-Martín P. Características, aplicaciones y perspectivas de las células madre mesenquimales en terapia celular. *Med Clin (Barc)*. 2017;148(9):408–114.
5. Bieback K, Brinkmann I. Mesenchymal stromal cells from human perinatal tissues: from biology to cell therapy. *World J Stem Cells*. 2010;2(4):81–92.
6. Trounson A, McDonald C. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges. *Cell Stem Cell*. 2015;17(1):11–22.
7. Gálvez P, Clares B, Hmadcha A, Ruiz A, Soria B. Development of a cell-based medicinal product: regulatory structures in the European Union. *British Medical Bulletin*. 2013;105(1):85–105.
8. Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell*. 2008;134(5):877–86.
9. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *npj Regenerative Medicine*. 2019;4(22):1–7.
10. Pimentel-Parra GA, Murcia-Ordoñez B. Células madre, una nueva alternativa médica. *Perinatología y Reproducción Humana*. 2017;31:1–6.

11. Tapia-Rojas S, Mayanga-Herrera A, Enciso-Gutiérrez J, Centurion P, Amiel-Pérez J. Procedimiento para el cultivo e identificación de células madre obtenidas de lipoaspirado humano con fines de investigación. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020;37(3):547–53.
12. Han Y, Li X, Zhang Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*. 2019;8(886):8–32.
13. Ratajczak MZ, Ratajczak J. Extracellular microvesicles as game changers in better understanding the complexity of cellular interactions—from bench to clinical applications. *American Journal of the Medical Sciences*. 2017;354(5):1–15.
14. Kusuma GD, Carthew J, Lim R, Frith JE. Effect of the microenvironment on mesenchymal stem cell paracrine signaling: opportunities to engineer the therapeutic effect. *Stem Cells and Development*. 2017;26:1–42.
15. Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, Buzás EI, Vizio D Di, Gardiner C, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for extracellular vesicles. *Journal of Extracellular Vesicles*. 2014;26913(1–6).
16. Harrell C, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome. *Cells*. 2019;8(467):1–34.
17. Ha D, Yang N, Nadiathe V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2016;6(4):287–96.
18. Bayo J, Marrodán M, Aquino JB, Silva M, García MG, Mazzolini G. The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells on hepatocellular carcinoma. *Liver International*. 2014;34:330–42.
19. Armstrong JPK, Holme MN, Stevens MM. Re-engineering extracellular vesicles as smart nanoscale therapeutics. *ACS Nano*. 2017;11:69–83.

20. Domínguez LM, Fiore EJ MG. Células madre/estromales mesenquimales. Su potencial terapéutico en Medicina. *Medicina*. 2020;80:696–702.
21. Mansoor H, Ong H, Riau A, Stanzel T, Mehta J, Hin-Fai Yam G. Current trends and future perspective of mesenchymal stem cells and exosomes in corneal diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20(2853):1–28.
22. Vasiliadis A, Galanis N. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells from different bone sources: a panorama. *Stem Cell Investigation*. 2020;7(15):1–4.
23. Espinoza F, Aliaga F CP. Escenario actual y perspectivas de la terapia con células madre mesenquimales en medicina intensiva. *Rev Med Chile*. 2016;144:222–31.
24. Rodríguez-Fontan F, Chahla J, Piuizzi NS, Payne K, Muschler GF, LaPrade RF. Células madre y progenitoras para la reparación de cartílago articular. *Rev Latinoam Cir Ortop*. 2016;1(2):66–76.
25. Serna-Cuéllar E S-SL. Protocolo de extracción y procesamiento de células madre adultas del tejido adiposo abdominal: coordinadas del cirujano plástico en la investigación traslacional. *Cir Plast Iberolatinoam*. 2013;39:44–50.
26. Tapia-Rojas S, Mayanga-Herrera A, Enciso-Gutiérrez J, Centurion P, Amiel-Pérez J. Procedimiento para el cultivo e identificación de células madre obtenidas de lipoaspirado humano con fines de investigación. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020;37(3):547–53.
27. Arbosa A, Nicolaua F, Quetglas M, Ramisb JM, Monjob M, Muncunillc J, et al. Obtención de células madre mesenquimales a partir de cordones umbilicales procedentes de un programa altruista de donación de sangre de cordón. *Inmunologia*. 2013;32(1):3–11.
28. Chandravanshi B, Bhonde RR, Patil D, Patil Vidyapeeth D, Tukaram Nagar S. Human umbilical cord-derived stem cells: isolation, characterization, differentiation, and application in treating diabetes. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*. 2018;46(5):399–412.

29. Alatyat SM, Alasmari HM, Aleid OA, Abdel-maksoud MS, Elsherbiny N. Umbilical cord stem cells: background, processing and applications. Vol. 65, Tissue and Cell. Elsevier Ltd; 2020.
30. Zha K, Li X, Yang Z, Tian G, Sun Z, Sui X, et al. Heterogeneity of mesenchymal stem cells in cartilage regeneration: from characterization to application. Vol. 6, Regenerative Medicine. Nature Research; 2021.
31. Sekiya I, Muneta T, Horie M, Koga H. Arthroscopic transplantation of synovial stem cells improves clinical outcomes in knees with cartilage defects. Clinical Orthopaedics and Related Research. 2015 Jul 8;473(7):2316–26.
32. Roseti L, Desando G, Cavallo C, Peretta M GB. Articular Cartilage Regeneration in Osteoarthritis. Cells. 2019;8(1305):1–16.
33. Peng L, Jia Z, Yin X, Zhang X, Liu Y, Chen P, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, cartilage, and adipose tissue. Stem Cells Dev. 2008;17(4):761–73.
34. Xu L, Liu Y, Sun Y, Wang B, Xiong Y, Lin W, et al. Tissue source determines the differentiation potentials of mesenchymal stem cells: a comparative study of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. Stem Cell Res Ther. 2017;8:1–11.
35. Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. Cell and Tissue Research. 2007 Mar;327(3):449–62.
36. Maqsood M, Kang M, Wu X, Chen J, Teng L, Qiu L. Adult mesenchymal stem cells and their exosomes: sources, characteristics, and application in regenerative medicine. Life Sci. 2020;256:1–9.
37. Rodríguez-Fuentes DE, Fernández-Garza LE, Samia-Meza JA, Barrera-barrera SA, Caplan AI B-SH. Mesenchymal Stem Cells Current Clinical Applications: A Systematic Review. Archives of Medical Research. 2021;52:93–101.

38. Kim M, Kim KH, Song SU, Yi TG, Yoon SH, Park SR, et al. Transplantation of human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells reduces fibrotic scar formation in a rat spinal cord injury model. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2017 Feb 1;12:1–36.
39. Van Velthoven CT, Kavelaars A, Heijnen CJ. Mesenchymal stem cells as a treatment for neonatal ischemic brain damage. *Vol. 71, Pediatric research*. 2012. p. 474–81.
40. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*. 2002 Jan 1;105:93–8.
41. Cardinal-Fernández P, Correger E, Villanueva J RF. Distrés respiratorio agudo: Del síndrome a la enfermedad. *Med Intensiva*. 2016;40(3):169–75.
42. Martínez-Chamorro E, Díez A, Ibañez L, Ossaba S, Borrueal S. Diagnóstico radiológico del paciente con COVID-19. *Radiología*. 2021;63:56–73.
43. Liu A, Zhang X, He H, Zhou L, Naito Y, Sugita S LJ. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem/Stromal Cell Derived Secretome and Vesicles for Lung Injury and Disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2020;20(2):1–31.
44. Li Z, Niu S, Guo B, Gao T, Wang L, Wang Y, Wang L, Tan Y, Wu J HJ. Stem cell therapy for COVID-19, ARDS and pulmonary fibrosis. *Cell Proliferation*. 2020;53:1–15.
45. Narita K, Fukuoka H, Sekiyama T, Suga H, Harii K. Sequential scalp assessment in hair regeneration therapy using an adipose-derived stem cell-conditioned medium. *Dermatologic Surgery* . 2020 Jun 1;46:1–10.
46. Egger A, Tomic-Canic M, Tosti A, Frost P. Advances in stem cell-based therapy for hair loss. *Vol. 8*. 2020.

47. Ha DH, Kim HK, Lee J, Hoon Kwon H Park GH, Yang SH, Jung JY, Choi H, Lee JH, Sung S, Weon Y SB. Mesenchymal stem/stromal cell-derived exosomes for immunomodulatory therapeutics and skin regeneration. *Cells*. 2020;9(1157):17–25.
48. Panés J, García-Olmo D, van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, et al. Long-term efficacy and safety of stem cell therapy (Cx601) for complex perianal fistulas in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2018 Apr 1;154(5):1334-1342.
49. Boscá MM, Alós R, Maroto N, Gisbert JP, Beltrán B, Chaparro M, et al. Recomendaciones del Grupo Español de Trabajo de Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa (GETECCU) para el tratamiento de las fístulas perianales de la enfermedad de Crohn. *Gastroenterología y Hepatología*. 2020 Mar 1;43(3):155–68.
50. Panés J, García-Olmo D, van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, et al. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *The Lancet*. 2016 Sep 24;388:1281–90.
51. Meng ZW, Baumgart DC. Darvadstrocel for the treatment of perianal fistulas in Crohn's disease. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*. 2020 Jun 2;14:405–10.
52. Wang J, Sun M, Liu W, Li Y LM. Stem Cell-Based Therapies for Liver Diseases: An Overview and Update. *Tissue Eng Regen Med*. 2019;16(2):107–18.
53. Castiglioni A, Singerman L, Brance ML. Osteonecrosis no traumática de cabeza femoral: patogénesis, diagnóstico y tratamientos actuales. *Actual Osteol*. 2015;11(1):57–70.
54. Petrigliano F, Lieberman J. Osteonecrosis of the hip: novel approaches to evaluation and treatment. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2007(465):53–62.

55. Zalavras CG, Lieberman JR. Osteonecrosis of the femoral head: evaluation and treatment. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2014;22(7):455–64.
56. Cohen-Rosenblum A, Cui Q. Osteonecrosis of the femoral head. *Orthopedic Clinics of North America*. 2018(50):1–11.
57. Lespasio MJ, Sodhi N, Mont MA. Osteonecrosis of the hip: a primer. *Perm J*. NLM. 2019;23:18–100.
58. Xu Y, Jiang Y, Xia CS, Wang Y, Zhao Z, Li T. Stem cell therapy for osteonecrosis of femoral head: opportunities and challenges. *Regenerative Therapy*. Japanese Society of Regenerative Medicine. 2020;15:295–304.
59. Wang A, Ren M, Wang J. The pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: a systematic review of the literature. *Gene*. Elsevier. 2018;671:103–9.
60. Pinilla-Gracia C, Hernández-Fernández A, Rodríguez-Nogué L, Martínez-Aznar C, Bejarano-Lasunción C, Martín-Hernández C. Epidemiología, resultados clínicos y tasa de éxito en cirugía preservadora de cadera en la necrosis avascular de cabeza femoral. *Acta Ortopédica Mexicana*. 2020;34(1):16–21.
61. Tabatabaee RM, Saberi S, Parvizi J, Mortazavi SMJ, Farzan M. Combining concentrated autologous bone marrow stem cells injection with core decompression improves outcome for patients with early-stage osteonecrosis of the femoral head: a comparative study. *The Journal of Arthroplasty*. 2015 Sep 1;30(9):11–5.
62. 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. *Journal of Arthroplasty*. 2012 May;27(5):679–86.

63. Ma Y, Wang T, Liao J, Gu H, Lin X, Jiang Q, 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 and Therapy*. 2014 Dec 1;5:1–8.
64. Johnell O KJ. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteop Int*. 2006;17(12):1726–33.
65. Borgström F, Karlsson L, Ortsäter G, Norton N, Halbout P, Cooper C, et al. Fragility fractures in Europe: burden, management and opportunities. *Arch Osteoporosis*. 2020;15(59):2–4.
66. Ulrike I, Mödder KS. Skeletal stem/osteoprogenitor cells: Current concepts, alternate hypotheses, and relationship to the bone remodeling compartment. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2008;103:393–400.
67. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2011;26(2):229–38.
68. Riancho JA D-CJ. Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto. *Reumatol Clin*. 2011;7(S2):1–4.
69. Al-Azzawi F. The menopause and its treatment in perspective. *Postgrad Med J*. 2001;77:292–304.
70. Nogués X, Martínez-Laguna D. Tratamiento de la osteoporosis. *Med Clin (Barc)*. 2017:1–8.
71. Rizzoli R, Branco J, Brandi ML, Boonen S, Bruyère O, Cacoub P, et al. Management of osteoporosis of the oldest old. *Osteoporos Int*. 2014;25(11):2507–29.
72. Peris P, Martínez-Ferrer A, Monegal A, Martínez de Osaba MJ, Muxi A, Guañabens N. 25 hydroxyvitamin D serum levels influence adequate response to bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Bone*. 2012;51(1):54–8.

73. Ettinger B, Mitlak BH, Nickelsen T, Genant HK, Christiansen C, Zanchetta JR, et al. Reduction of Vertebral Fracture Risk in Postmenopausal Women With Osteoporosis Treated With Raloxifene. *Jama*. 1999;282(7):637–45.
74. Neer R, Arnaud C, Zanchetta J, Prince R, Gaich G, Reginster J, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med*. 2001;344(19):1434–41.
75. González-Macías J, Del Pino-Montes J, Olmos JM, Nogués X. Guías de práctica clínica en la osteoporosis posmenopáusica, glucocorticoidea y del varón. Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral. *Rev Clin Esp*. 2015;215(9):515–26.
76. Ensrud KE, Crandall CJ. Osteoporosis. *Annals of Internal Medicine*. 2017;167(3):1–16.
77. Goodarzi P, Aghayan HR, Payab M, Larijani B, Alavi-Moghadam S, Sarvari M, et al. Human fetal skin fibroblast isolation and expansion for clinical application. *Methods Mol Biol*. 2019;261–73.
78. Aghayan HR, Goodarzi P, Arjmand B. GMP-compliant human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for cellular therapy. *Methods Mol Biol*. 2014:93–107.
79. Paspaliaris V, Kolios G. Stem cells in osteoporosis: from biology to new therapeutic approaches. *Stem Cells Int*. 2019.
80. Chaparro O, Linero I. Regenerative medicine: a new paradigm in bone regeneration. *Adv Techn Bone Regen*. 2016:253–74.
81. Phetfong J, Sanvoranart T, Nartprayut K, Nimsanor N, Seenprachawong K, Prachayasittikul V, et al. Osteoporosis: the current status of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cell Mol Biol Lett*. 2016;21(12):1–20.

82. Giampietro PF, McCarty C, Mukesh B, McKiernan F, Wilson D, Shuldiner A, et al. The role of cigarette smoking and statins in the development of postmenopausal osteoporosis: a pilot study utilizing the marshfield clinic personalized medicine cohort. *Osteoporos Int.* 2010;21(3):467–77.
83. Infante A, Rodríguez CI. Osteogenesis and aging: lessons from mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9:1–7.
84. Duque G. Bone and fat connection in aging bone. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:429–34.
85. Rodríguez J, Garat S, Gajardo H, Pino A, Seitz G. Abnormal osteogenesis in osteoporotic patients is reflected by altered mesenchymal stem cells dynamics. *J Cell Biochem.* 1999;75:414–23.
86. Rodríguez J, Montecinos L, Ríos S, Reyes P, Martínez J. Mesenchymal stem cells from osteoporotic patients produce a type I collagen-deficient extracellular matrix favoring adipogenic differentiation. *J Cell Biochem.* 2000;79:557–65.
87. Cheng Y, Dong J, Bian Q. Small molecules for mesenchymal stem cell fate determination. *World J Stem Cells.* 2019;11(12):1084.
88. Almalki SG, Agrawal DK. Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells. *Differentiation.* 2016;92:41–51.
89. Ichioka N, Takada K, Inaba M, Baba S, Taira M, Nakamura K, et al. Prevention of senile osteoporosis in SAMP6 mice by intra-bone marrow injection of allogeneic bone marrow cells. *International Congress Series.* 2002;20:393–7.
90. Wang Z, Goh J, Das De S, Ge Z, Ouyang H, Chong JSW, et al. Efficacy of bone marrow-derived stem cells in strengthening osteoporotic bone in a rabbit model. *Tissue Engineering.* 2006;12(7):1753–61.
91. Kim D, Cho SW, Her SJ, Yang JY, Kim SW, Kim SY, et al. Retrovirus-mediated gene transfer of receptor activator of nuclear factor- κ B-Fc prevents bone loss in ovariectomized mice. *Stem Cells.* 2006;24(7):1798–805.

92. Tang Y, Tang W, Lin Y, Long J, Wang H, Liu L, et al. Combination of bone tissue engineering and BMP-2 gene transfection promotes bone healing in osteoporotic rats. *Cell Biology International*. 2008;32:1150–7.
93. Sui B, Hu C, Zhang X, Zhao P, He T, Zhou C, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell therapy promotes osteoblastogenesis and prevents glucocorticoid-induced osteoporosis. *Stem Cells Translational Medicine*. 2016;5:1238–46.
94. Kiernan J, Hu S, Grynblas M, Davies J, Stanford W. Systemic mesenchymal stromal cell transplantation prevents functional bone loss in a mouse model of age-related osteoporosis. 2016;5:1–11.
95. Cho SW, Sun HJ, Yang JY, Jung JY, Choi HJ, An JH, et al. Human adipose tissue-derived stromal cell therapy prevents bone loss in ovariectomized nude mouse. *Tissue Engineering*. 2012;18(9):1067–78.
96. Ye X, Zhang P, Xue S, Xu Y, Tan J, Liu G. Adipose-derived stem cells alleviate osteoporosis by enhancing osteogenesis and inhibiting adipogenesis in a rabbit model. *Cytotherapy*. 2014:1–13.
97. Medhat D, Rodríguez CI, Infante A. Immunomodulatory effects of MSCs in bone healing. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(5647):1–17.
98. Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nature Immunology*. 2014;15(11):1009–16.
99. Hu L, Yin C, Zhao F, Ali A, Ma J, Qian A. Mesenchymal stem cells: cell fate decision to osteoblast or adipocyte and application in osteoporosis treatment. *Int J Mol Sci*. 2018;19:1–19.
100. Arjmand B, Sarvari M, Alavi-Moghadam S, Payab M, Goodarzi P, Gilany K, et al. Prospect of stem cell therapy and regenerative medicine in osteoporosis. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11:1–9.

101. Macías I, Alcorta-Sevillano N, Rodríguez CI, Infante A. Osteoporosis and the potential of cell-based therapeutic strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(1653):1–24.
102. Pretell J, Ruiz C, Rodriguez J. Trastornos de la consolidación: retardo y pseudoartrosis. *Rev Med Hered*. 2009;20(1):31–9.
103. Liebergall M, Schroeder J, Mosheiff R, Gazit Z, Yoram Z, Rasooly L, et al. Stem cell-based therapy for prevention of delayed fracture union: a randomized and prospective preliminary study. *Molecular Therapy*. 2013;21(8):1631–8.
104. Giannotti S, Bottai V, Trombi L, Petrini M. Treatment of pseudoarthrosis of the upper limb using expanded mesenchymal stem cells: a pilot study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17:224–7.
105. Giannotti S, Trombi L, Bottai V, Ghilardi M, D'Alessandro D, Danti S, et al. Use of autologous human mesenchymal stromal cell/fibrin clot constructs in upper limb non-unions: long-term assessment. *PLoS ONE*. 2013;8(8).
106. Bajada S, Harrison PE, Ashton BA, Cassar-Pullicino VN, Ashammakhi N, Richardson From Robert Jones JB, et al. Successful treatment of refractory tibial nonunion using calcium sulphate and bone marrow stromal cell implantation. *The Journal of Bone And Joint Surgery*. 2007;89:1382–6.
107. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R, et al. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- To 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Engineering*. 2007;13(5):947–55.
108. Winkler T, Sass F, Schmidt-Bleek K, Wolff J. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone Joint Res*. 2018;7:232–43.
109. Im G il, Kim TK. Stem cells for the regeneration of tendon and ligament: a perspective. *International Journal of Stem Cells*. 2020 Nov 1;13(3):335–41.

110. Leong NL, Kator JL, Clemens TL, James A, Enamoto-Iwamoto M, Jiang J. Tendon and ligament healing and current approaches to tendon and ligament regeneration. Vol. 38, *Journal of Orthopaedic Research*. John Wiley and Sons Inc. 2019:7–12.
111. Kim YS, Sung CH, Chung SH, Kwak SJ, Koh YG. Does an injection of adipose-derived mesenchymal stem cells loaded in fibrin glue influence rotator cuff repair outcomes? A clinical and magnetic resonance imaging study. *American Journal of Sports Medicine*. 2017;45(9):2010–8.
112. Hernigou P, Flouzat Lachaniette CH, Delambre J, Zilber S, Duffiet P, Chevallier N, et al. Biologic augmentation of rotator cuff repair with mesenchymal stem cells during arthroscopy improves healing and prevents further tears: a case-controlled study. *International Orthopaedics*. 2014;38:1811–8.
113. Oe K, Kushida T, Okamoto N, Umeda M, Nakamura T, Ikehara S, et al. New strategies for anterior cruciate ligament partial rupture using bone marrow transplantation in rats. *Stem Cells And Development*. 2011;20(4):671–9.
114. Wang Y, Shimmin A, Ghosh P, Marks P, Linklater J, Connell D, et al. Safety, tolerability, clinical, and joint structural outcomes of a single intra-articular injection of allogeneic mesenchymal precursor cells in patients following anterior cruciate ligament reconstruction: a controlled double-blind randomised trial. *Arthritis Research and Therapy*. 2017;19(180):1–12.
115. Jacob G, Shimomura K, Krych AJ, Nakamura N. The meniscus tear: a review of stem cell therapies. *Cells*. 2020;9(92):1–17.
116. Doral MN, Bilge O, Huri G, Turhan E, Verdonk R. Modern treatment of meniscal tears. *EFORT Open Reviews*. 2018;3:260–8.
117. van der Bracht H, Verdonk R, Verbruggen G, Elewaut D, Verdonk P. Cell-based meniscus tissue engineering. *Topics in Tissue Engineering*. 2007;3.
118. Nakagawa Y, Muneta T, Kondo S, Mizuno M, Takakuda K, Ichinose S, et al. Synovial mesenchymal stem cells promote healing after meniscal repair in microminipigs. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015;23:1007–17.

119. Vangsness CT, 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. A randomized, double-blind, controlled Study. *Journal of Bone and Joint Surgery*. 2014;96(2):90–8.
120. Sekiya I, Koga H, Otabe K, Nakagawa Y, Katano H, Ozeki N, et al. Additional use of synovial mesenchymal stem cell transplantation following surgical repair of a complex degenerative tear of the medial meniscus of the knee: a case report. *Cell Transplantation*. 2019;28(11):1445–54.
121. Pak J, Lee JH, Lee SH. Regenerative repair of damaged meniscus with autologous adipose tissue-derived stem cells. *BioMed Research International*. 2014.
122. Kloppenburg M BF. Osteoarthritis year in review 2019: epidemiology and therapy. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2020;28:242–8.
123. James S, Abate D, Abay S, Abbafati C, Abbasi N, Abdela J, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 Diseases and Injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the global burden of disease study 2017. *Lancet*. 2018;392:1789–858.
124. Hayashi D, Roemer FW, Guermazi A. Imaging for osteoarthritis. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*. 2016:1–9.
125. Wellsandt E, Golightly Y. Exercise in the management of knee and hip osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*. 2017;29:1–9.
126. Espinoza-Morales R, Pérez-Bastidas ME. Enfoque terapéutico actual de la osteoartritis. *Reumatología Clínica*. 2005;1(2):8–15.
127. Anandacoomarasamy A, March L. Current evidence for osteoarthritis treatments. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. 2010;2(1):17–28.

128. Lopa S, Colombini A, Moretti M, de Girolamo L. Injective mesenchymal stem cell-based treatments for knee osteoarthritis: from mechanisms of action to current clinical evidences. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 2019;27(6):2003–20.
129. Koh YG, Kwon OR, Kim YS, Choi YJ. Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment: a prospective study. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*. 2014;30:1–8.
130. Vega A, Martín-Ferrero MA, Canto F del, Alberca M, García V, Munar A, et al. Treatment of knee osteoarthritis with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells: a randomized controlled trial. *Transplantation*. 2015;99(8):1681–90.
131. Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-Moltó F, Nuñez-Córdoba JM, Sánchez-Echenique C, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *Journal of Translational Medicine*. 2016;14(246):1–9.
132. Jo CH, Chai JW, Jeong EC, Oh S, Shin JS, Shim H, et al. Intra-articular Injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the Knee: a 2-year follow-up study. *American Journal of Sports Medicine*. 2017;45:2774–83.
133. Gupta PK, Chullikana A, Rengasamy M, Shetty N, Pandey V, Agarwal V, et al. Efficacy and safety of adult human bone marrow-derived, cultured, pooled, allogeneic mesenchymal stromal cells (Stempeucel®): preclinical and clinical trial in osteoarthritis of the knee joint. *Arthritis Research and Therapy*. 2016;18(301):1–18.
134. Emadedin M, Liastani M, Fazeli R, Mohseni F, Moghadasali R, Mardpour S, et al. Long-term follow-up of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in patients with knee, ankle, or iph osteoarthritis. *Archives of Iranian Medicine*. 2015;18(6):336–44.

135. Chahal J, Gómez-Aristizábal A, Shestopaloff K, Bhatt S, Chaboureau A, Fazio A, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cell treatment in patients with osteoarthritis results in overall improvement in pain and symptoms and reduces synovial inflammation. *Stem Cells Translational Medicine*. 2019;8:1–12.
136. Soler R, Orozco L, Munar A, Huguet M, López R, Vives J, et al. Final results of a phase I–II trial using ex vivo expanded autologous mesenchymal stromal cells for the treatment of osteoarthritis of the knee confirming safety and suggesting cartilage regeneration. *Knee*. 2015;1–8.
137. Zhang R, Ma J, Han J, Zhang W, Ma J. Mesenchymal stem cell related therapies for cartilage lesions and osteoarthritis. *Am J Transl Res*. 2019;11(10):6275–89.