



Proyecto Fin de Máster “Introducción a la Investigación en Medicina”

ESTUDIO DE LA REGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR MEDIANTE CÉLULAS MESENQUIMALES

Lucía López Sagasta
MIR COT III
HCU Lozano Blesa Zaragoza
Tutor: Jorge Albareda Albareda (Jefe de servicio COT)
Agosto 2014

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	2
2. REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN DEL TEMA	3-36
2.1. CARTÍLAGO ARTICULAR	
2.1.1. EMBRIOLOGÍA	3-4
2.1.2. COMPOSICIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR	4-6
2.1.3. ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR	6-7
2.1.4. FUNCIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR Y MECANOBIOLOGÍA	8
2.1.5. LESIONES DEL CARTÍLAGO ARTICULAR	8-10
2.1.6. VALORACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR POR RESONANCIA MAGNÉTICA (RM)	10-12
2.2. ARTROSIS	
2.2.1. ETIOPATOGENIA	13-14
2.2.2. FACTORES DE RIESGO DEL DESARROLLO DE LA ARTROSIS	15-16
2.2.3. ANATOMÍA PATOLÓGICA	16-18
2.2.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	18-19
2.2.5. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	19-20
2.2.6. TRATAMIENTO CONSERVADOR DE LA ARTROSIS	20-22
2.2.7. TRATAMIENTOS QUIRÚRGICOS ACTUALES DE LAS LESIONES DEL CARTÍLAGO ARTICULAR	22-27
2.3. CÉULAS MESENQUIMALES Y OSTEOARTROSIS	28-36
3. PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: ESTUDIO DE LA REGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR MEDIANTE CÉLULAS MESENQUIMALES.	37-40
3.1. OBJETIVOS	37
3.2. MATERIAL Y MÉTODOS	37-39
3.3. OBSERVACIONES	39-40
4. BIBLIOGRAFÍA	41-45

1. INTRODUCCIÓN

La artrosis es una enfermedad crónica, lentamente progresiva e irreversible y con gran impacto socio-económico, ya que constituye una de las principales causas de discapacidad e invalidez en pacientes de edad avanzada en todo el mundo³².

El cartílago articular es el tejido en el que se inicia la enfermedad y su destrucción es el hecho más característico de esta enfermedad. Podemos decir, que la artrosis es la fase final de múltiples patologías que afectan al cartílago articular; aunque la causa más frecuente es la artrosis primaria. El cartílago articular es un tejido único con una eficiencia funcional biomecánica inigualable que deriva de sus propiedades específicas de diseño, en lo que se refiere a sus interacciones estructurales, metabólicas y funcionales¹. Es por esto, por lo que se trata de un tejido con muy baja capacidad de reparación y regeneración espontánea^{1, 52, 81}.

Durante las últimas décadas se han estudiado y desarrollado diferentes técnicas para intentar reparar el cartílago articular y alcanzar un tratamiento terapéutico y no paliativo para la artrosis. La mayoría de estas técnicas se limitan al tratamiento de lesiones condrales focales y los resultados clínicos obtenidos han sido insuficientes, dando lugar a la formación de un fibrocartílago con propiedades bioquímicas y biomecánicas inferiores a las del cartílago articular normal. La implantación de condrocitos autólogos (ACI) cultivados en laboratorio es una realidad, y han sido utilizados para el tratamiento de determinadas lesiones cartilaginosas localizadas obteniendo pobres resultados¹⁰⁶. En la actualidad, es la medicina regenerativa la que ofrece una alternativa moderna para el tratamiento de la enfermedad degenerativa cartilaginosa o artrosis.

La medicina regenerativa se basa en el potencial de las células mesenquimales multipotenciales indiferenciadas (CMM) que se encuentran en distintos tejidos del organismo, que mediante un proceso de regeneración crean un tejido nuevo que sustituye al lesionado⁷⁴. Estas células pretenden regenerar el tejido dañado mediante un proceso de quimiotaxis, proliferación y diferenciación celular. Los estudios disponibles en la actualidad sobre el tratamiento basado en células mesenquimales multipotenciales presentan un enorme potencial para poder desarrollarse en muchas direcciones y representan un enfoque nuevo y prometedor con interesantísimos hallazgos preliminares.

2. REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN DEL TEMA

2.1. CARTÍLAGO ARTICULAR

El cartílago articular es un órgano de tejido conjuntivo que recubre los extremos epifisarios de los huesos y que posee una estructura funcional única que le proporciona notables propiedades mecánicas. Su función fundamental es proporcionar el deslizamiento multiplanar de las superficies articulares casi sin fricción y, a su vez, la neutralización y amortiguación de las presiones mecánicas.

El grosor del cartílago articular dependerá de la especie y del tipo de articulación, ya que existe una correlación con la presión que soporta su superficie articular; siendo aproximadamente de 2-5 mm de espesor en la rodilla y en la cadera humana.

A pesar de ser un tejido carente de vascularización e inervación y con una capacidad muy limitada para la reparación y regeneración espontánea¹, el cartílago articular es un tejido único con una eficiencia funcional biomecánica inigualable que deriva de sus propiedades específicas de diseño, en lo que se refiere a sus interacciones estructurales, metabólicas y funcionales.

Dichas características siguen siendo motivo de estudio para muchos médicos e investigadores, con el objetivo de desarrollar diferentes técnicas de reparación cartilaginosa y encontrar por fin un tratamiento curativo para las lesiones del cartílago articular. Una vez que el cartílago se ha destruido, su arquitectura celular de la matriz altamente organizada, no es capaz de repararse ni regenerarse de nuevo. La evolución natural de las lesiones cartilaginosas es de manera progresiva e irreversible, hacia la degeneración completa del cartílago. Es lo que se conoce como proceso artrósico, enfermedad muy frecuente e invalidante y con gran repercusión económica en la sociedad actual. Por eso, el tratamiento de los defectos condrales continúa siendo en la actualidad un reto clínico y científico.

2.1.1. EMBRIOLOGÍA

Las nuevas líneas de investigación sobre la reparación del cartílago articular se basan en el empleo de células mesenquimales multipotenciales que participan en el proceso de la esquelotogénesis embrionaria.

Las células mesenquimales de la placa lateral del embrión, emigran a los miembros y lo hacen mediante un proceso que se denomina condensación cartilaginosa. Es una fase transitoria en la que se establece un armazón para la formación del esqueleto endocondral. Dentro de este armazón las células crecen, se empaquetan y se densifican,

umentando de volumen sin que haya un incremento de la población celular. Este proceso está dirigido por interacciones entre células, células-matriz y factores de crecimiento. Las células mesenquimales segregan una matriz extracelular rica en ácido hialurónico que facilita el movimiento celular, y colágeno de tipo I que evita la interacción célula-célula íntima. Conforme avanza la condensación, disminuye el ácido hialurónico de la matriz extracelular, favoreciendo la interacción célula-célula que impulsa varias vías de transducción de señales para iniciar la diferenciación condrogénica.

A nivel celular, la esquetogénesis regenerativa comparte características con la condrogénesis. El proceso de regeneración de las fracturas depende de células progenitoras; es decir, de células de estirpe mesenquimal conocidas coloquialmente como células madre. Las células mesenquimales son células multipotenciales ya que tienen la capacidad de diferenciarse en condrocitos, osteoblastos, adipocitos, fibroblastos, estroma medular y otros tejidos de origen mesenquimal, pudiendo regenerar tipos específicos de células en organismos adultos. Actualmente, la médula ósea se considera la fuente más accesible y rica de células madre². A parte de su capacidad de diferenciación al inducirlas, estas células se definen por su capacidad de permanecer en estado latente indiferenciado hasta recibir la señal de división asimétrica y por hacerlo mediante más ciclos repetidos que las células diferenciadas sanas³.

2.1.2. COMPOSICIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR

Las propiedades funcionales del cartílago articular van a depender directamente de la organización compleja de las moléculas de la matriz extracelular, que se organizan formando complejas estructuras supramoleculares, que interactúa con el líquido intersticial. Así, se crea una fuerte correlación entre la estructura, la composición bioquímica y las propiedades biomecánicas del cartílago articular sano; imprescindibles para poder comprender el complejo proceso de reparación del cartílago articular y la limitación de su reparación y regeneración espontánea.

Las células del cartílago se conocen como **condrocitos** y son los responsables del mantenimiento de la matriz extracelular, controlando la síntesis y la degradación de sus componentes proteicos. Solo entre el 1.5% y el 4% del volumen del cartílago corresponde a los condrocitos, por lo que son células muy activas metabólicamente. Al ser un tejido avascular y alinfático, la nutrición se realiza a través de la difusión directa de los nutrientes procedentes del líquido articular⁴. Igualmente, los factores de crecimiento, las citoquinas y los estímulos mecanoquímicos que regulan la remodelación de la matriz, también tienen que atravesar la matriz extracelular para poder comunicarse con las células.

Los condrocitos se incluyen en una matriz extracelular de colágeno y proteoglicanos fundamentalmente y líquido intersticial (60%-80%) muy bien organizada. Se conocen aproximadamente 20 proteínas que forman parte del cartílago articular, siendo el colágeno de tipo II y los agregados de proteoglicanos los más abundantes y los que desempeñan la función que más conocemos.

El **colágeno** representa el entramado o esqueleto del cartílago articular, y al menos se han identificado cinco tipos diferentes con una participación del tipo II en el 80-90%. Cada tipo de colágeno (II, VI, IX, X, XI) contribuye a la formación del cartílago y a darle forma, resistencia y rigidez tensil; aunque el tipo II es el más abundante y el primer responsable de la fuerza de tensión y la forma del cartílago⁵.

Los **proteoglicanos** también juegan un papel importante en el funcionamiento del cartílago articular. El más abundante es el *agrecán*, que es una macromolécula con un centro proteico al que se unen numerosas cadenas de *glucosaminoglicanos (GAG)*, de *condroitinsulfato* y *queratosulfato*. Son macromoléculas cargadas negativamente, por lo que se repelen entre sí proporcionando rigidez a la matriz, y además son hidrófilas por lo que atraen y mantienen el agua dentro de la matriz, contribuyendo a la rigidez mecánica del cartílago cuando se somete a fuerzas de compresión, permitiendo además la recuperación de su espesor normal cuando la fuerza compresiva cesa.

El **agua** representa el 65-80% del cartílago húmedo⁶ y se encarga del transporte de nutrientes desde el líquido sinovial a las células y de la eliminación de residuos celulares al exterior. La matriz de colágeno tiene una permeabilidad limitada y ofrece una resistencia que permite que el agua salga lentamente de la zona sometida a compresión, ejerciendo de amortiguador.

La interacción de *colágeno*, *agua*, y *proteoglicanos* es imprescindible para la elasticidad, la resistencia a la compresión y recuperación después de la deformación⁶; y para el funcionamiento adecuado del cartílago articular. Los condrocitos mantienen el equilibrio entre síntesis y degradación, el entramado de colágeno resiste las fuerzas de tensión y se opone a la imbibición de agua y los proteoglicanos mantienen la hidratación de la matriz y resisten las fuerzas de compresión.

Un concepto para la comprensión de este fenómeno, es considerar el cartílago articular como una estructura presurizada, similar a una tienda de aire. La “membrana” de la superficie es la lámina *splendens*, formado por las fibras de colágeno de la superficie articular, y la bomba de inflado está representada por las moléculas de proteoglicanos. El medio de inflado es el ultrafiltrado del líquido sinovial, que infla la estructura cuando entra a través de los finos poros de la superficie, por los que sale cuando es sometido a compresión⁷. En su estado de equilibrio, la presión de expansión en el sistema del cartílago articular está equilibrada con la resistencia que ofrecen las fibras de colágeno,

pero el equilibrio puede ajustarse cuando se aplica una carga externa. Si la presión externa supera la presión interna, el líquido sale hasta alcanzar un nuevo equilibrio. Conforme se comprimen las moléculas de proteoglicanos, sus cargas se concentran y esto hace que la presión del líquido en el interior del cartílago aumente hasta alcanzar un nuevo equilibrio.

2.1.3. ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR

La identificación de las diferentes capas del cartílago articular es fundamental para entender la función de su superficie⁸. El cartílago articular se divide en cuatro zonas morfológicamente diferentes, tanto en su composición como en su organización estructural, en función de las demandas mecánicas de cada una de ellas.

- **Zona superficial**

La zona superficial supone del 10 al 20% de la superficie total del cartílago y es la zona que se encuentra en contacto con el líquido sinovial. Los condrocitos de esta zona son aplanados y por su situación local están sometidos a fuerzas de cizallamiento. La matriz sintetizada tiene una proporción alta de colágeno frente a proteoglicanos y un mayor contenido de agua en comparación con otras zonas. Las fibras de colágeno se disponen comprimidas y se orientan paralelas a la superficie articular, proporcionando una gran rigidez y resistencia a las fuerzas de tensión y compresión, al mantener el líquido intersticial en su interior, presurizado. Esta capa forma una fuerte “corteza” que cubre y protege al resto de cartílago subyacente, proporcionando resistencia a las fuerzas de cizallamiento y permitiendo el suave deslizamiento entre las superficies articulares.

- **Zona de transición o zona media**

La zona de transición o zona media representa entre el 40 y el 60% del espesor total del cartílago. Los condrocitos son de pequeño tamaño y de forma esférica, con morfología intermedia entre las células aplanadas superficiales y las grandes células esféricas profundas. La matriz extracelular tiene un mayor contenido de proteoglicanos, de agregán unido al ácido hialurónico y menor porcentaje de agua y colágeno. Las fibrillas de colágeno de tipo II son de mayor diámetro y se disponen de forma más aleatoria, inclinándose para formar arcos, adoptando una organización típica de cartílago hialino que permite resistir las fuerzas de compresión.

- **Zona profunda o zona radial**

La zona radial ocupa el 30% del grosor del cartílago articular. La mayor concentración de proteoglicanos se encuentra en la parte superior de esta capa y es la que proporciona al cartílago las propiedades ante las fuerzas de compresión y la capacidad de distribuir las cargas. Las fibras de colágeno tienen un mayor diámetro, si bien sus propiedades tensiles son mínimas, y se disponen perpendiculares al hueso subcondral, proporcionando un anclaje al cartílago calcificado subyacente y al hueso subcondral. Los condrocitos son grandes y más activos en cuanto a síntesis, pero se disponen en grupos de células autónomos denominados condronas⁹.

- **Zona calcificada**

La zona profunda está parcialmente calcificada, distinguiéndose por una línea de demarcación de cartílago no calcificado denominada línea de marea o *tide mark*. Sus condrocitos están hipertróficos y son capaces de sintetizar colágeno de tipo X y de calcificar su matriz extracelular. Cuando el cartílago se degenera, la zona calcificada se extiende y aparecen nuevas líneas de marea, además de la original. Por esta razón, es importante que en el proceso de regeneración del cartílago se controle la diferenciación adicional hipertrófica de los condrocitos, que produciría una calcificación de la matriz extracelular con la consecuente desaparición de las propiedades características del cartílago, sobre todo su capacidad de recuperación desde la deformación.

- **Unión cartílago calcificado- hueso subcondral**

Esta zona asegura la integración del cartílago en el hueso. Se trata de una zona de remodelación activa del hueso y posiblemente también del cartílago. No se conoce muy bien la importancia de este proceso, pero sí que indica que existe una alta demanda de *turnover* de colágeno y de otras proteínas de matriz para mantener la unión sana y fuerte entre el cartílago y el hueso.

Cabría pensar, que la diferencia clave entre la reparación del cartílago articular en el niño frente a la ausencia de reparación del mismo en el adulto, se encuentre en el *turnover* de la matriz y en el propio proceso de crecimiento del niño, donde existe una síntesis de colágeno activa. En el adulto, se incrementa la síntesis de colágeno en la zona lesionada, pero muchas de esas moléculas nuevas son degradadas. Esta situación nos lleva a pensar que para asegurar un proceso de regeneración exitoso, no sólo necesitamos de un estímulo, sino que es necesario proteger de la proteólisis a las nuevas moléculas sintetizadas y asegurar su incorporación y retención en la nueva matriz de reparación. Además a medida que el cartílago envejece, sus células disminuyen por apoptosis, por lo que la capacidad de regeneración todavía es más limitada, con menor número celular y por tanto con menor capacidad de regeneración de la matriz.

2.1.4. FUNCIÓN DEL CARTILAGO ARTICULAR Y MECANOBIOLOGÍA

El cartílago articular es un tejido conectivo altamente especializado y complejo, cuyas funciones principales son: la transmisión de cargas entre superficies articulares adyacentes, disminuir las fuerzas de contacto y de fricción, y transferir estreses al hueso subcondral durante la carga¹⁰.

El cartílago es capaz de soportar deformaciones del 50% o más sin presentar fracturas macroscópicas, incrementando así el área de contacto durante la aplicación de una carga para repartir las fuerzas sobre un área de mayor tamaño¹¹. Gracias a la presurización del líquido intersticial, durante las actividades físicas normales como andar o correr de forma suave, el cartílago articular se somete a cargas que sobrepasan 5 veces el peso corporal¹². Este fenómeno permite al cartílago soportar altas presiones, mientras que la matriz sólida soporta las fuerzas de tensión.

Es un hecho, que las fuerzas mecánicas aplicadas al tejido pueden modificar la actividad metabólica de los condrocitos¹³. En áreas sometidas a altas fuerzas de carga, se produce un aumento del contenido de proteoglicanos¹⁴, mientras que la reducción de cargas disminuye el contenido de proteoglicanos en el cartílago¹⁴.

En general, podemos decir que la *rigidez* y *resistencia* del cartílago se relacionan con el contenido en colágeno, la orientación de las fibras y la densidad de enlaces cruzados¹⁵; mientras que las propiedades de *compresión* se atribuyen mayormente al contenido de glucosaminoglicanos, aunque el grosor y la orientación de la capa superficial también contribuyen¹⁶.

2.1.5. LESIONES DEL CARTÍLAGO ARTICULAR

Ya en 1743 Hunter¹⁷ dijo: “Desde Hipócrates hasta los tiempos actuales, se ha observado que una lesión ulcerada del cartílago articular es un gran problema, y una vez que se ha destruido nunca se recupera.” Una década más tarde, Paget¹⁸ dijo: “No se han dado casos, pienso yo, en los que una lesión del cartílago se haya reparado o una porción perdida del cartílago se restaure, con un nuevo y correctamente formado cartílago articular en humanos.” Desde entonces, numerosos estudios han confirmado que el cartílago tiene una capacidad limitada para la reparación espontánea, excepto para la formación de un tejido fibroso o fibrocartilaginoso, y que su función mecánica nunca se recupera espontáneamente tras una lesión importante.

La mayoría de los tratamientos desarrollados hasta el momento para la regeneración del cartílago articular, se limitan a lesiones condrales focales. El cartílago articular se degenera en respuesta a diferentes estímulos metabólicos, genéticos, vasculares,

mecánicos y traumáticos. Podemos decir, que la artrosis es la fase final de múltiples patologías articulares. La más frecuente es la artrosis primaria, en la que no se identifica una causa evidente, sino que es la interacción de múltiples factores de riesgo los que generan una degeneración difusa del cartílago, como se expone más adelante. Sin embargo, hoy en día las lesiones traumáticas del cartílago son sin duda las más frecuentes en personas jóvenes debido al aumento de la práctica deportiva. Además, existe una clara evidencia de que las lesiones ligamentosas y meniscales producen cambios obvios en la remodelación ósea y cartilaginosa hasta 10 años después de producirse la lesión¹⁹.

La acción traumática produce tres tipos de lesiones diferentes según su profundidad: *lesiones microscópicas por impacto, fracturas condrales y fracturas intraarticulares*; y cada una de ellas con diferentes posibilidades de curación y pronóstico a largo plazo. Hay que diferenciar las lesiones que afectan parcialmente al cartílago (que no afectan a todo el espesor), de las lesiones totales que llegan hasta el hueso subcondral, ya que la curación dependerá del acceso a los vasos y células de la médula ósea, de las citoquinas específicas y de los factores de crecimiento. Es importante entender este concepto, porque las primeras técnicas quirúrgicas que se desarrollaron se basaron en el principio de estimulación ósea y condujo al fracaso de las mismas en la regeneración del cartílago hialino normal, lo que ha suscitado un creciente interés en los últimos años en el desarrollo de nuevas terapias basadas en células madre multipotenciales.

Las lesiones condrales parciales no se suelen reparar espontáneamente, aunque sí que se inicia algún grado de reparación; sin embargo, las lesiones que afectan a todo el espesor del cartílago cicatrizan espontáneamente, aunque la reparación no restablece la morfología ni la función normal del cartílago.

Secuencialmente, se produce una fibrilación superficial, pérdida de proteoglicanos de la matriz, muerte de condrocitos y fisuración de la superficie articular. La lesión del hueso subcondral genera una respuesta inflamatoria con formación de hematoma, organización y formación de un coagulo de fibrina que se transforma en tejido fibrovascular de reparación²⁰. Las células mesenquimales multipotenciales de la médula ósea proliferan y se diferencian en condrocitos gracias a los factores de crecimiento local. En 6-8 semanas hay una gran cantidad de condrocitos en el tejido de regeneración que sintetiza colágeno de tipo II y agregados de proteoglicanos. Las células más profundas, sufrirán un proceso de osificación endocondral que cicatriza el defecto del hueso subcondral. La matriz del cartílago hialino se degenera y se transforma en matriz de fibrocartílago con un cociente de colágeno tipo I/tipo II mayor que el cartílago hialino normal. En un año, las células restantes se transforman en fibroblastos y se forma una matriz envolvente formada por fibras de colágeno tipo I. Este tejido con el tiempo suele desintegrarse dejando el hueso expuesto²¹.

Cuando se crean artificialmente defectos condrales de 6 mm de diámetro y de profundidad, se produce un intento de reparación del defecto. Se observa una respuesta que puentea los bordes cartilaginosos con el fin de sellar el defecto a nivel de la superficie articular, mientras se forma un quiste en la capa subcondral de hueso esponjoso, lo que sugiere que no se produce una respuesta reparadora adecuada para soportar cargas. Por el contrario, los defectos cartilaginosos de grosor parcial o completo sin llegar a la placa subcondral, no conducen a ninguna respuesta debido a la ausencia de reclutamiento de células mesenquimales²². Como el tejido articular es un tejido conectivo, avascular, aneural y alinfático, su capacidad de curación es extraordinariamente limitada. El fibrocartílago que se forma es mucho menos elástico que el cartílago hialino. Posee una matriz fibrosa desorganizada que carece de suficiente cantidad de colágeno de tipo II y moléculas de agregán, por tanto se desgasta más fácilmente en comparación con el tejido original. La sustitución ideal del cartílago articular lesionado es aquella que se parezca lo más estrechamente posible al cartílago hialino. Éste es el ideal de las modernas técnicas quirúrgicas y la razón de la investigación continuada en el tratamiento de los defectos de la superficie articular⁸.

2.1.6. VALORACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR POR RESONANCIA MAGNETICA (RM)

Según Shindle y cols., las imágenes de RM nos permiten analizar hoy en día las características normales del cartílago articular hialino, las posibles lesiones y las características de la reparación cartilaginosa²³.

Para valorar el cartílago articular se han descrito secuencias de pulso diferentes. La tradicional **T1** proporciona mala diferenciación entre la señal de intensidad intermedia del cartílago articular y la baja señal del líquido articular. La **T2**, el largo tiempo de eco proporciona una mala delimitación entre el hueso subcondral y el componente profundo del cartílago, proporcionando un falso engrosamiento del hueso subcondral y adelgazamiento del cartílago articular.

Las **imágenes de RM en dos dimensiones de eco intermedio sin suspensión grasa (*espin eco turbo*)** proporcionan buen contraste diferencial entre la intensidad de señal intermedia del cartílago articular, la baja señal del fibrocartílago, y la alta señal de intensidad del líquido articular. Esta secuencia además presenta la estratificación en escala gris, que representa la distribución del cartílago por zonas en expresión de su matriz. La *capa profunda normal*, debido a la orientación tan ordenada del colágeno y la restricción de movilidad del agua, proporciona una señal hipointensa. En las *zonas media y superficial* del cartílago, el agua está menos limitada y por eso, tienen una señal muy alta en comparación con la capa profunda y el hueso subcondral. Además

proporciona otras ventajas, ya que es más sensible incluso en presencia de metales y aporta muy buen contraste diferencial entre el hueso subyacente, el cartílago, los ligamentos, los meniscos y el líquido articular. Si a esta secuencia se le aplica además la **supresión grasa**, se detectarán más fácilmente las diferencias sutiles entre los diferentes componentes mencionados y también veremos la médula ósea y el edema de partes blandas. Esta técnica aporta mayor calidad de detalle pero no se han demostrado diferencias objetivas con precisión²⁴.

Aunque se discute cuál es la secuencia de pulso óptima, el Comité del Articular Cartilage Imaging, un subcomité de la *International Cartilage Articular Society (ICRS)*, recomienda utilizar imagen de *spin eco turbo* con o sin sustracción de grasa, T2 con o sin supresión grasa o T1 con gradiente de eco, tanto para valorar el cartílago original como el reparado²⁵.

Para establecer comparaciones útiles entre las diferentes opciones terapéuticas, es necesario establecer criterios estándar para documentar la lesión inicial del cartílago y evaluar el resultado tras el procedimiento seleccionado. Los fundamentos de la clasificación moderna de las lesiones del cartílago, fueron establecidos por Outerbridge en 1961²⁶ cuando describió los cuatro grados de la condromalacia rotuliana. En 1976 Insall y cols., clasificaron la condromalacia rotuliana en grados similares pero con diferencias menores. En 1988 Bauer y Jackson describieron un sistema de seis grados basado en el aspecto de la lesión. En 1989 Noyes y Stabler, propusieron una evaluación completa, que emplea una puntuación basada en la magnitud de la lesión del cartílago articular y en el tamaño de la lesión. A pesar de las necesidades de un sistema de clasificación completo universal, no existe consenso sobre el sistema que debe emplearse⁷.

La mejor clasificación artroscópica fue la desarrollada por Outerbridge en 1961²⁶, estableciendo cuatro grados de lesiones cartilagosas. El **grado I** corresponde al reblandecimiento y tumefacción del cartílago; el **grado II** a la fibrilación de espesor parcial; el **grado III** a hendiduras hasta el hueso subcondral y el **grado IV** al hueso subcondral expuesto. Sin embargo, los grados II y III no describen la profundidad de la lesión. Otras clasificaciones artroscópicas^{27, 28} incluyen detalles sobre la apariencia de la superficie, profundidad de la lesión, su diámetro y localización. No obstante, no han sido muy utilizadas ya que están más orientadas a evaluar la artrosis más que lesiones cartilagosas focales.

La ICRS, fundada en 1997, ha desarrollado un sistema estandarizado para la evaluación del cartílago articular y en reparación²⁵. La puntuación artroscópica de la ICRS se ha validado para valorar la reparación del cartílago articular. Es fiable y reproducible estadísticamente²⁹, y ha desarrollado un sistema estandarizado para valorar las lesiones

cartilaginosas y su reparación, creando grupos de trabajo para valoración clínica artroscópica y técnicas de imagen²⁵ (Tabla 1.6.1).

Alteración patológica	Hallazgos artroscópicos	Hallazgos en RM
Cartílago articular	Grado 0	Cartílago normal en escala gris estratificada
Lesiones superficiales de ablandamiento del cartílago	Grado 1: ablandamiento con el palpador	Aumento de la señal en el cartílago articular
Lesiones superficiales de menos del 50%	Grado 2: fisuras/fibrilación de menos del 50% del grosor	Focos lineales u ovoideos de aumento de señal en menos del 50% del grosor
Defecto cartilaginoso de más del 50% sin atravesar el hueso subcondral	Grado 3: ampollas/fisuras/fibrilación afectando a más del 50% del grosor	Focos lineales u ovoideos de aumento de señal en más del 50% del grosor, sin extenderse bajo el hueso
Ulceración hasta el hueso subcondral	Grado 4: exposición del hueso subcondral	Pérdida completa de cartílago articular o colgajo superficial

Tabla 1.6.1 Clasificación modificada de la Sociedad Internacional de Reparación del Cartílago (ICRS)³⁰.

2.2. ARTROSIS

La artrosis³¹ constituye una de las principales causas de discapacidad en personas de edad avanzada en todo el mundo. Ya solo en los Estados Unidos supone un gasto anual en atención sanitaria de 95 mil millones de dólares³². Su frecuencia es tal en los países desarrollados, que es la segunda causa de invalidez tras las enfermedades cardiovasculares. El dolor asociado a esta enfermedad conduce a efectos secundarios como reducción de la movilidad o disfunción articular, disminución de la producción laboral, pérdida de calidad de vida y en casos graves pueden inducir incluso algún estado depresivo. A diferencia de otros tejidos del organismo, el cartílago no puede regenerarse por sí mismo de forma espontánea. Por lo tanto, existe una necesidad imperiosa de conseguir enfoques terapéuticos eficaces para reparar los defectos del cartílago articular, con el fin de evitar la progresión de pequeños defectos a enfermedades crónicas y reparar los defectos mayores que limiten y reviertan la progresión de su discapacidad.

La artrosis es una enfermedad crónica, lentamente progresiva e irreversible. Puede presentarse de forma aislada (monoarticular), pero lo más frecuente es su variedad poliarticular, afectando principalmente a las pequeñas articulaciones de manos y pies, columna vertebral y a las grandes articulaciones de carga como caderas y rodillas. Clínicamente se caracteriza por dolor, deformidad y limitación de la movilidad. La enfermedad parece iniciarse focalmente en áreas del cartílago y las modificaciones patognomónicas de este tejido empeoran con la edad.

La enfermedad degenerativa articular debe interpretarse como algo sin solución de continuidad, que abarca un amplio espectro de situaciones patológicas y que van desde un defecto condral u osteocondral focal en una rodilla aparentemente sana, a una lesión condral asociada a alteraciones degenerativas secundarias, o la degeneración condral difusa sin causa aparente pero muy incapacitante.

2.2.1. ETIOPATOGENIA

Su etiopatogenia es compleja, siendo diferentes factores genéticos, metabólicos y locales, los que interaccionan entre sí ocasionando un proceso de deterioro del cartílago, con reacción proliferativa del hueso subcondral e inflamación sinovial. En la mayoría de los casos no reconocemos ninguna alteración articular preexistente que origine la artrosis, lo que denominamos artrosis primaria. Cuando existe una causa claramente identificable que predispone a la aparición de artrosis la denominamos artrosis secundaria. Ambas cursan con alteraciones anatomopatológicas, manifestaciones clínicas y radiológicas comunes. La destrucción del cartílago articular es el hecho más característico de la artrosis, siendo el tejido en el que se inicia la enfermedad. El

cartílago articular va deteriorándose progresivamente, por lo que podemos decir que la artrosis es la fase final de múltiples patologías que afectan al cartílago articular.

En la tabla 1³¹ resumimos las diferentes causas tanto de origen sistémico como local que pueden desarrollar una artrosis secundaria.

TABLA 1. ETIOLOGÍA DE LA ARTROSIS.
<i>A. Primarias o idiopáticas:</i>
1. Locales o monoarticulares
2. Generales, se afectan tres o más áreas.
<i>B. Secundarias:</i>
1. Traumáticas
1.1. Agudas: fracturas y luxaciones.
1.2. Crónicas: laboral, deportes...
2. Congénitas:
dismetrías, alteraciones axiales, displasias.
3. Metabólicas:
ocronosis (alcaptonuria), hemocromatosis, enfermedad de Wilson y enfermedad de Gaucher.
4. Endocrinas:
acromegalia, hiperparatiroidismo, hipotiroidismo, diabetes mellitus, obesidad.
5. Enfermedades por depósito de calcio:
pirofosfato cálcico dihidrato, apatita.
6. Otras enfermedades óseas y articulares:
6.1. localizadas: necrosis avascular, infección, gota
6.2. difusas: artritis reumatoide, Paget, osteopetrosis y osteocondritis.
7. Neuropáticas (articulación de Charcot)
8. Endémicas (Kashin-Beck y Mseleni)
9. Otras (congelación, enfermedad de Caisson, hemoglobinopatías y hemofilias)

El factor fundamental relacionado con el origen y el desarrollo de la enfermedad es el **mecánico**. Actualmente, este concepto ha variado adquiriendo importancia un concepto más molecular. Lo que entendíamos por concepto mecánico puro, como un desgaste lento y progresivo del cartílago articular, ha sido reemplazado por un concepto más bioquímico produciendo el factor mecánico una reacción inflamatoria en la que participa el cartílago, la membrana sinovial y el hueso.

El inicio del proceso artrósico se puede desencadenar por diferentes mecanismos. Entre ellos encontramos *las fuerzas de carga intensas*, que producen la muerte de los condrocitos por apoptosis y degradación de la matriz; la *lesión directa del tejido cartilaginoso* y probablemente del *hueso subcondral* en traumatismos articulares, artritis sépticas, crónicas y cristalinas, etc. Existen otras sobrecargas mecánicas que se producen por la *incongruencia articular* como puede ocurrir en la displasia congénita de cadera, enfermedad de Perthes, genu-varo o genu-valgo, etc. Y por último, las *alteraciones de la vascularización ósea* como la necrosis isquémica o la enfermedad de Paget, pueden desencadenar el inicio de la enfermedad.

2.2.2. FACTORES DE RIESGO DE DESARROLLO DE ARTROSIS

Existen numerosos factores que predisponen y favorecen el desarrollo y la progresión de esta enfermedad. Se conocen como factores de riesgo, y pueden ser sistémicos o locales cuando tienen una repercusión directa sobre la articulación.

La *edad avanzada* es el factor de riesgo más importante asociado a la artrosis, ya que aumenta la vulnerabilidad de la articulación. La respuesta del cartílago a las cargas dinámicas es menor y su regeneración es más lenta, por lo que en pacientes mayores el cartílago es más fino y más susceptible de lesionarse tras sollicitaciones mecánicas. Además, la musculatura y los ligamentos son elementos de protección articular y con la edad se debilitan.

El *sexo femenino y la circunferencia de la cintura* son predictores de niveles elevados de leptina en suero y en líquido sinovial y es posible que exista una asociación entre artrosis y déficit de estrógenos, dada la mayor frecuencia de artrosis en la mujer postmenopáusica.

A nivel metabólico hay que destacar la *obesidad*. El riesgo de padecer artrosis se incrementa un 15% por cada aumento de una unidad de IMC y además parece observarse una asociación entre obesidad y artrosis digital, e hipercolesterolemia y artrosis sistémica.

Como casi siempre, la genética juega un papel importante y está demostrada su influencia en el 50% de los casos. Tanto el FGF β , como el IGF-I estimulan la síntesis de DNA en los condrocitos y la síntesis de matriz cartilaginosa, entre otros.

Los factores de riesgo locales se refieren a aquellos que afectan a la anatomía de la articulación produciendo una incongruencia articular, a los traumatismos o microtraumatismos articulares, y a la composición mineral ósea y del microambiente articular. La actividad laboral y la deportiva prolongada y con intensidad moderada, no parecen acelerar el desarrollo de la artrosis; sin embargo, el ejercicio físico intenso se asocia a una mayor incidencia de artrosis, aunque con mayor correlación radiográfica que clínica.

La *incongruencia articular* por alteraciones anatómicas es un factor de riesgo importante de artrosis en pacientes jóvenes. Esta situación genera una alteración de la transmisión de cargas a través de la articulación, produciendo una sobrecarga articular por hiperpresión en las superficies articulares que pone a prueba la resistencia del cartílago, provocando que los tejidos reaccionen intentando adaptarse a las nuevas exigencias. Por ejemplo, las deformidades en varo o valgo determinan un aumento de la concentración de fuerzas en una hemiararticulación.

Los *traumatismos o microtraumatismos* son cada vez más frecuentes en gente joven y con altas sollicitaciones articulares en la práctica deportiva. Se conoce como artritis postraumática y a menudo suelen ir asociadas de lesiones meniscales o del ligamento cruzado anterior de la rodilla. También es frecuente en trabajos que impliquen sobrecargas repetidas.

Un aumento de la *densidad mineral ósea* asocia un mayor riesgo de artrosis; y al contrario de lo que se piensa, la osteoporosis y el déficit de vitamina D presentan una asociación negativa con el desarrollo de la misma. Por último, cualquier situación que altere el microambiente articular como la acidosis del líquido sinovial, será un factor de riesgo para el desarrollo de la artrosis.

2.2.3. ANATOMÍA PATOLÓGICA

A nivel macroscópico, el cartílago articular pierde su lisura brillante y su elasticidad característica, transformándose en una superficie amarillenta, granular, mate y blanda. Adquiere un aspecto aterciopelado por la fibrilación de sus capas superficiales y también aparecen fisuraciones verticales que se hunden hasta alcanzar la placa subcondral. El cartílago puede desprenderse y desaparecer, quedando expuesto el hueso subcondral y presentar úlceras que suelen localizarse en zonas de carga. Esta pérdida condral se traduce en un estrechamiento de la interlínea articular en la imagen radiológica.

Secundario al deterioro condral, la cápsula articular se engruesa y se fibrosa adhiriéndose a zonas de hueso subyacente lo que limita la movilidad articular y la membrana sinovial puede llegar a formar gruesos repliegues hiperémicos con formaciones vasculares y signos inflamatorios. El hueso subcondral subyacente a la ulceración, sufre una intensa esclerosis con formación de islotes de tejido fibroso o fibrocartilaginoso. En el margen osteocartilaginoso, aparecen osteofitos que son protuberancias de hueso esponjoso y también es frecuente observar cavidades subcondrales o quistes óseos de paredes esclerosas rellenas de un líquido gelatinoso acelular.

Es importante analizar lo que ocurre a nivel microscópico para entender la fisiopatología real y plantear nuevas opciones terapéuticas; lo que confirma la importancia de este nuevo concepto molecular. En el cartílago normal y sano existe un equilibrio entre la síntesis y degradación de las moléculas de matriz. En condiciones patológicas, como la artrosis, predomina el catabolismo, con destrucción progresiva e irreversible del cartílago.

Histológicamente, el primer signo de degradación es la fibrilación de la superficie articular y la pérdida de proteoglicanos. La lesión en la estructura del colágeno aumenta el contenido en agua (edema) del tejido. En fases posteriores, el proceso de fibrilación provoca fisuras y roturas en el cartílago que se pueden extender hasta el hueso subcondral.

En la artrosis de larga evolución, se asocian cambios patológicos en los tejidos de la articulación, como los quistes subcondrales y los osteofitos o el reemplazo del cartílago hialino por fibrocartílago. El cartílago artrósico histológicamente es heterogéneo, con áreas de proliferación celular y elevada actividad sintética (indicativos de la actividad reparadora), parcheadas con zonas de degradación, necrosis e inflamación. En el cartílago artrósico se han detectado niveles altos de proteínas que degradan la matriz, conocidas como metaloproteinas (MMP). Dos de ellas en particular, la estromelisina (MMP-3) y la colagenasa (MMP-1) son capaces de degradar la matriz. La presencia en el líquido sinovial de fragmentos de matriz extracelular, de enzimas proteolíticas, y de citoquinas representan marcadores biológicos de la enfermedad³³.

En consecuencia, se producen alteraciones biomecánicas, observándose una reducción significativa de las propiedades elásticas³⁴. Además, el elevado contenido en agua del cartílago artrósico hace que el tejido se comprima más fácilmente y sea más permeable. Aunque las capas superficiales desempeñan el papel principal en el soporte de las cargas en el cartílago sano e intacto, la fibrilación en la zona superficial del cartílago artrósico genera tensiones y deformaciones mayores de la matriz sólida y una disminución de la capacidad para soportar cargas del tejido.

La secuencia lesional se produce en dos fases, una primera ineficaz de reparación y la segunda de reabsorción. Ante las demandas mecánicas se produce una proliferación e hipertrofia de los condrocitos en un intento de aumentar la respuesta reparadora, generando una síntesis acelerada de los proteoglicanos que rodean a los condrocitos. El colágeno generado es patológico de menor tamaño y con alteración de la distribución de sus fibras que se hacen menos resistentes a las fuerzas de tensión. Esta fase de reparación puede durar años y termina fracasando. Se produce una gran producción de factores de crecimiento con respuesta insuficiente de los condrocitos, que se produce por causas desconocidas.

En la fase de reabsorción se produce la destrucción de la matriz extracelular por enzimas lisosómicas, mediadores inflamatorios y citoquinas. Esta destrucción supera en última instancia a la regeneración y desemboca en una incompetencia del sistema cartílago-hueso subcondral. La liberación intraarticular de fragmentos de la matriz destruida, origina una sinovitis con liberación de citoquinas en el líquido articular que agrava la destrucción del cartílago, constituyendo el círculo vicioso de la artrosis.

En resumen, las relaciones entre la estructura y la función del cartílago articular dependen de la interrelación entre los condrocitos y la matriz extracelular. Los condrocitos se encargan de mantener la estructura de la matriz, al regular la síntesis y degradación de sus componentes. A través de este mecanismo de remodelación, el cartílago se adapta a las demandas funcionales para optimizar sus propiedades. Aunque el cartílago puede ejercer su función durante casi toda la vida, la degeneración de la matriz extracelular genera un tejido de baja calidad con propiedades mecánicas insuficientes, que dificulta la función articular con el tiempo. El desafío se encuentra en desarrollar nuevas estrategias que estabilicen o incluso reviertan el desarrollo de esta enfermedad.

2.2.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Partiendo de la base de que el cartílago no duele, el dolor percibido es secundario a la distensión cápsulo-ligamentosa, a la inflamación sinovial y a la denudación de las superficies óseas. Suele ser de inicio insidioso y tipo mecánico. Cuando progresa la enfermedad, el dolor persiste incluso en reposo y puede agudizarse de forma episódica por fases inflamatorias. La limitación de la movilidad se debe a la fibrosis, adherencias cápsulo-sinoviales y topes óseos. Aparecen deformaciones articulares secundarias a la destrucción ósea por ulceración y a las formaciones osteofitarias junto a las retracciones cápsulo-ligamentosas. Estas deformidades alteran la biomecánica articular normal acelerando la progresión de la artrosis. También son frecuentes las crepitaciones y los crujidos articulares, y en ocasiones aparecen episodios intercurrentes de inflamación e incluso de derrame sinovial. Se trata de un derrame mecánico, con menos de 2000 células por mm³, transparente, amarillo y viscoso.

A la exploración, la articulación se encuentra tumefacta, sin derrame articular, dura a la palpación y dolorosa a la movilización pasiva pudiendo apreciarse crepitaciones o crujidos durante la misma.

La radiología por sí sola, no permite establecer el tratamiento a seguir de la artrosis, ya que no siempre existe una correlación clínico-radiológica. Por esta razón, la decisión terapéutica se suele apoyar en escalas clínicas que intentan ser objetivas y que además permiten evaluar la eficacia conseguida con el tratamiento propuesto. La escala WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index) es una de las más utilizadas para la valoración clínica de la artrosis de cadera y de rodilla. Esta escala valora del 0 (asintomático) al 4 (muchísimo) los síntomas relacionados con el dolor (ítems), la rigidez (2 ítems) y la capacidad funcional (17 ítems).

En cuanto a las localizaciones más frecuentes, en el caso de la poliartrosis se suelen afectar las articulaciones interfalángicas proximales y distales, donde aparecen unos nódulos duros y dolorosos durante su formación (nódulos de Bouchard y Heberden respectivamente). Es muy frecuente la artrosis trapeciometacarpiana (rizartrosis) que produce una limitación y pérdida de fuerza importante del pulgar. La cadera se afecta predominantemente en varones (hasta un 20% es bilateral) y se manifiesta con un dolor referido a la ingle, nalgas, trocánter mayor e incluso a la rodilla, produciendo en un primer tiempo limitación para las rotaciones y afectando posteriormente al resto del movimiento. Por el contrario, la rodilla se afecta con más frecuencia en mujeres y puede ser desde unicompartmental con su deformidad correspondiente, hasta fases avanzadas con afectación de los tres compartimentos. La espondiloartrosis se instaura en las articulaciones interapofisarias vertebrales, en los discos y en los ligamentos paravertebrales, provocando dolor y limitación de la movilidad.

2.2.5. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

No se dispone de ninguna prueba de laboratorio que sea diagnóstica para esta enfermedad, ya que no existe una repercusión sistémica. El análisis del líquido sinovial presentará una viscosidad normal manteniendo la misma concentración de glucosa y proteínas que en plasma y menos de 2000 glóbulos blancos por mm^3 , de los cuales el 25% serán PMN.

La primera prueba complementaria que puede ayudarnos al diagnóstico de la artrosis es la radiología simple (RX) en dos proyecciones, aunque la mayoría de las veces no se establece una correlación clínico-radiológica.

La *disminución del espacio articular* es la manifestación radiológica de la destrucción progresiva del cartílago hialino, siendo más prominente en las zonas sometidas a mayor carga. La *esclerosis subcondral* se relaciona íntimamente con el estrechamiento del espacio y se debe al aumento de la densidad del tejido óseo subcondral. La presencia de *osteofitos* es más frecuente en las zonas sometidas a menos presión y son excrescencias óseas en los bordes de la articulación. Los *quistes o geodas* son áreas radiolucientes en el espesor del hueso subcondral, con bordes bien definidos y abiertos o no al espacio articular. Su formación se debe al excesivo gradiente de presión que hay entre el espacio articular y el hueso subcondral, con la subsiguiente intrusión de líquido sinovial. En ocasiones también pueden observarse *cuerpos óseos intraarticulares*.

Para la gradación de la gonartrosis se ha descrito la escala de *Ahlbäck* que permite sentar las indicaciones del tratamiento quirúrgico.

GRADO I	Disminución de la interlínea articular en un 50%
GRADO II	Desaparición de la interlínea
GRADO III	Erosión ósea leve < 0.5 cm
GRADO IV	Erosión ósea moderada de 0.5 a 1 cm
GRADO V	Erosión ósea grave >1 cm o subluxación

Tabla 2.2.5.1 Escala *Ahlbäck* para la artrosis de rodilla.

La RM no se utiliza para el diagnóstico de la artrosis, ya que su diagnóstico es clínico y/o radiológico. Sin embargo, hoy en día la RM nos permite analizar las características normales del cartílago articular hialino, las posibles lesiones (fundamentalmente focales) y las características de la reparación cartilaginosa, como se ha especificado previamente.

2.2.6. TRATAMIENTO CONSERVADOR DE LA ARTROSIS

El objetivo terapéutico de cualquier afección articular es el alivio del dolor y el restablecimiento de la función articular, ya sea mediante opciones físicas, farmacológicas o quirúrgicas. Actualmente, no disponemos de ningún tratamiento curativo de la enfermedad articular. Existen fármacos y técnicas que mejoran la sintomatología y funcionalidad del paciente, e incluso algunas pueden frenar la progresión de la enfermedad; pero ninguna es capaz de revertir, regenerar y reparar, y por tanto curar las lesiones del cartílago articular. Finalmente, en los casos más graves e incapacitantes es necesaria la cirugía de reemplazo articular o artroplastia.

El tratamiento conservador de la artrosis y de las lesiones focales del cartílago articular se pueden resumir en la siguiente tabla³⁵.

CONSERVADOR NO FARMACOLÓGICO	Pérdida de peso Ejercicio físico Termoterapia, láser, TENS, ortesis
CONSERVADOR FARMACOLÓGICO	AAS. Paracetamol. AINES De acción central: codína, tramadol, fentanilo De acción lenta: Glucosamina, condroitín-sulfato Glucocorticoides intraarticulares Viscosuplementación ¿PRP?

Tabla 2.2.6.1 Tratamiento conservador de la artrosis

En la mayoría de los casos, debe establecerse al menos un periodo de 12 semanas de tratamiento médico, no operatorio, en lesiones cartilaginosa sospechosas antes de

decidir cualquier intervención quirúrgica. Y si la lesión no supone una alteración mecánica, la protección y la rehabilitación articular permiten la curación de la misma.

Los tratamientos expuestos en la tabla 2.2.6.1, cumplen los objetivos propuestos, siendo necesaria en muchas ocasiones la combinación de varias opciones terapéuticas para obtener la mejoría clínica y funcional del paciente. Existen diversas guías de práctica clínica (GPC) para el uso correcto y escalonado de los diferentes tratamientos disponibles, que ayudan a pautar la terapia más eficaz y personalizada en cada paciente.

Cabría destacar en este apartado el incremento en los últimos años del uso de fármacos autorizados específicamente para el tratamiento de la artrosis y que son los fármacos de acción lenta o SYSADOA (Symptomatic Slow Action Drugs for OsteoArthritis). Se denominan de acción lenta, en contraposición a los analgésicos tradicionales (inicio de acción inmediato), porque su efecto clínico se produce tras varias semanas de iniciar el tratamiento y se mantiene en el tiempo después de retirarlo. Estos fármacos se emplean como tratamiento sintomático de la artrosis (reducción del dolor y mejoría funcional) y además, se postulan como posibles modificadores de la enfermedad o condroprotectores.

Se trata del *sulfato de glucosamina*, *sulfato de condroitina* y *diacereína* y algunos estudios sugieren que pueden tener efectos beneficiosos sobre el cartílago articular³⁶. El ácido hialurónico también pertenece a este grupo y algunos estudios establecen que a corto plazo tiene dos efectos; modula el dolor y mejora la función articular en la artrosis incipiente³⁷ y reduce el tamaño de las lesiones condrales³⁸. Sin embargo; estos resultados se basan en estudios antiguos que precisaban de nuevos ensayos clínicos controlados y aleatorizados a gran escala para llegar a una conclusión definitiva. Actualmente, se ha visto que las GPCs internacionales publicadas en grandes bases de datos presentan recomendaciones divergentes en el empleo de estos fármacos en el manejo de la artrosis de rodilla, concluyendo que dichos fármacos por su nula o baja eficacia no deberían emplearse en el tratamiento de la artrosis³⁹.

Debido a los éxitos terapéuticos mediáticos en deportistas de élite, el plasma rico en plaquetas (PRP) es una novedosa herramienta terapéutica que ha revolucionado el mundo de la medicina deportiva y la traumatología. Actualmente existe un incremento del empleo del PRP intraarticular en el tratamiento de la artrosis de rodilla dada la frecuencia de esta patología, su bajo coste económico y la facilidad técnica de su aplicación mínimamente invasiva.

Se han realizado múltiples estudios comparativos entre el PRP y ácido hialurónico (AH), producto también debatido sobre su eficacia en el tratamiento de la artrosis, concluyendo que el PRP es más efectivo en la mejoría de la sintomatología en el tratamiento de la artrosis de rodilla *versus* el AH o una inyección placebo de suero

fisiológico; no obstante, este efecto beneficioso perdura únicamente 6 meses^{40,41}, sin mostrar mejoría radiológica, por lo que son necesarios más estudios para aclarar los resultados⁴².

El tratamiento con PRP solo sería eficaz en la mejora de la sintomatología en pacientes con patología degenerativa muy leve, sin haber alcanzado una fase avanzada⁴³, según concluye un metaanálisis realizado al respecto. A idéntica conclusión llegan otros autores que realizan otro metaanálisis evaluando únicamente estudios de evidencia máxima, si bien encuentran que las series de pacientes tratados con PRP intraarticular presentan un aumento de efectos adversos y complicaciones versus a los tratados con un placebo o AH⁴⁰.

Otros autores en cambio no llegan a conclusión alguna en su estudio, afirmando que no está demostrada su eficacia y debiendo de ser sumamente prudentes en la indicación del PRP intraarticular en el tratamiento de las condropatías de rodilla⁴⁴. Sobre este mismo punto una revisión realizada recientemente por Reumatólogos concluye que no hay evidencia alguna en el tratamiento de la artrosis de rodilla con PRP intraarticular requiriendo más estudios futuros⁴⁵.

En resumen, la aplicación terapéutica del PRP en el tratamiento de la artrosis de rodilla carece de evidencia científica en cuanto a los resultados obtenidos, pero no produce patología alguna a excepción del riesgo de infección.

2.2.7. TRATAMIENTOS QUIRÚRGICOS ACTUALES DE LAS LESIONES DEL CARTÍLAGO ARTICULAR.

Un reto para el cirujano ortopédico del siglo XXI es conseguir que el paciente de edad avanzada permanezca físicamente activo y pueda seguir contribuyendo a la sociedad. En la actualidad, la práctica deportiva es cada vez más exigente y mantenida durante más años, lo que resulta en lesiones que requieren soluciones - biológicas - que permitan seguir activo durante la mayor parte de la vida.

Se han obtenido resultados brillantes con el avance de la biomecánica de los últimos 50 años, adquiriendo mejores biomateriales y obteniendo implantes protésicos articulares más sofisticados, con instrumentación precisa e incluso asistidos por ordenador con técnicas de navegación. Sin embargo, los implantes son un tratamiento sustitutivo y no curativo de la artrosis, por lo que tienen una vida útil finita debido al aflojamiento u otros modos de fracaso y puede requerir más cirugía con mayor morbilidad para el paciente. El futuro se encuentra en la medicina regenerativa, con el potencial de hacer

crecer nuevos tejidos para reemplazar los dañados mediante la utilización de células madre con capacidad de autorrenovación y diferenciación en diferentes tipos de tejidos.

El tratamiento quirúrgico para la reparación y regeneración del cartílago articular adulto sigue siendo un reto para los investigadores y los traumatólogos. Debido a la sofisticada precisión de la interdependencia composicional y morfológica del cartílago articular, no es sorprendente que los intentos de conseguir una regeneración efectiva del cartílago articular hayan frustrado a los clínicos y a los investigadores.

Actualmente disponemos de múltiples estrategias terapéuticas para el tratamiento de las lesiones focales, con resultados clínicos variables, ya que ninguna de ellas ha conseguido la regeneración del cartílago articular normal.

Los esfuerzos para lograr una solución biológica reparadora son prometedores, pero no exento de obstáculos. La literatura científica apunta a que el empleo de células madres mesenquimales puede ser una alternativa prometedora, en la que muchos investigadores se están empleando a fondo abriendo nuevas líneas de investigación con animales de experimentación para reproducir lesiones parecidas a las del cartílago humano y lograr la formación de un cartílago hialino normal.

ARTROSCÓPICO	Lavado articular. Desbridamiento Abrasión, perforaciones
QUIRÚRGICO	Osteotomías Artroplastias Artrodesis

Tabla 2.2.7.1 Tratamiento quirúrgico de la artrosis³⁵.

Cada una de las técnicas artroscópicas expuestas en la tabla 2.2.7.1, han sido investigadas y discutidas en diferentes estudios clínicos y experimentales a lo largo de los últimos años, dirigidas sobre todo al tratamiento de las lesiones cartilaginosas focales. Sin embargo, cuando se trata de plantear un tratamiento en lesiones cartilaginosas difusas como puede ser la artrosis, nos encontramos con muchas limitaciones a la hora de plantear el tipo de tratamiento, ya que precisa de la reparación y regeneración de superficies articulares más amplias que permitan frenar e incluso revertir la degeneración progresiva del cartílago articular.

- **Lavado y desbridamiento artroscópico.**

El primer desbridamiento artroscópico de una rodilla artrósica fue publicado por Burman y cols., en 1934⁴⁶. Magnuson⁴⁷ introdujo el término de “desbridamiento articular” en 1941, método que consistía en retirar fragmentos sueltos de cartílago y meniscos, extirpación de osteofitos y tejido sinovial, y afeitado de las superficies meniscales y cartilaginosas degeneradas.

Estudios experimentales en ratas, han demostrado que los restos de cartílago pueden estimular la inflamación de la membrana sinovial, produciendo derrame articular y el aumento del nivel de enzimas que aumentan la destrucción del cartílago articular⁴⁸. Al eliminar este componente inflamatorio, el paciente percibe una mejoría clínica; sin embargo, ningún estudio experimental ha demostrado ningún beneficio sobre el cartílago articular. El afeitado del cartílago normal en animales no solo no estimula la regeneración de una superficie articular normal, sino que el cartílago restante degeneró después del afeitado^{49, 50}.

La eficacia del desbridamiento de varios tejidos para alterar el curso evolutivo de la artrosis o la mejoría funcional no ha sido establecida mediante estudios prospectivos aleatorizados⁵¹. Sin embargo, muchos autores han sugerido que esta técnica disminuye los síntomas en la mayoría de los pacientes, especialmente los síntomas mecánicos y de bloqueo articular. Los resultados de las técnicas de artroscopia desarrollados en los últimos años para el tratamiento de la artrosis son todavía motivo de controversia y la razón de ello parece ser la ausencia de ensayos clínicos bien diseñados.

- **Técnicas de estimulación de médula ósea.**

Históricamente, la mayoría de los tratamientos quirúrgicos para la reparación del cartílago se basaban en la exposición de células de la médula ósea para promover la respuesta reparadora; sin embargo, al analizarlos histológicamente se observaba la formación de un fibrocartílago que carecía de las características propias del cartílago hialino funcionante.

Las técnicas de estimulación medular incluyen la *artroplastia por abrasión*, las *perforaciones subcondrales*, y las *microfracturas*. Estas técnicas consisten en la violación sistemática de la placa ósea subcondral para acceder a las células reparadoras de la médula ósea. Esta reparación está limitada por el tamaño del defecto, de modo que la capacidad de reparación espontánea en lesiones osteocondrales de gran tamaño es prácticamente nula⁵².

En 1959, Pridie⁵³ describió la generación de un tejido de reparación fibrocartilaginoso en los cóndilos femorales dañados tras un *desbridamiento articular y perforación* del defecto del cartílago con una broca de 6 mm. Estudios experimentales en conejo y perro, observaron que el tejido de reparación formado era diferente al cartílago hialino articular en su composición, estructura y propiedades mecánicas, y con el tiempo mostraba signos de degeneración⁵⁴.

Mitchek y Shepard⁵⁵ demostraron en 1976 en un modelo de conejo que la *perforación subcondral* podía estimular la reparación de defectos condrales grandes; sin embargo, observó que el tejido de reparación aunque tenía aspecto cartilaginoso, no era capaz de soportar las cargas mecánicas y se degeneraba en el plazo de un año. Saphiro y cols.⁵⁴, en 1993, confirmaron estos hallazgos, donde demostraron que el tejido de reparación procedía de las células mesenquimales de la médula ósea.

Johnson⁵⁶ avanzó en los principios de la perforación subcondral mediante una abrasión de la capa superficial del hueso subcondral con una fresa motorizada para exponer los vasos interóseos. Esta técnica se denominó *artroplastia por abrasión*. Las biopsias del tejido de reparación resultante mostraron un fibrocartílago con predominio de colágeno de tipo I y no de tipo II, característico del cartílago hialino.

Aunque los artículos sobre la *perforación subcondral y la artroplastia por abrasión* no parecen demostrar un efecto terapéutico positivo específico del procedimiento de estimulación de la médula ósea, Blevins y cols.⁵⁷, así como Steadman y cols.⁵⁸, han obtenido resultados esperanzadores con la técnica de la *microfractura*. Esta técnica utiliza un punzón artroscópico para penetrar el hueso subcondral a intervalos aproximados de 3 mm a 4 mm, lo que permite conservar la placa ósea subcondral, reduce la necrosis térmica y crea una superficie más rugosa que facilita la adherencia del tejido de reparación. Steadman y cols.⁵⁹, publican resultados de mejoría clínica en un 80% de los pacientes a los 7 años de seguimiento y los mejores resultados se obtuvieron en pacientes menores de 35 años. Knutsen G y cols.⁶⁰, también aportan buenos resultados clínicos a los 2 años del tratamiento por microfractura de defectos osteocondrales de rodilla, que parecen depender de la edad y muestran más efectividad en pacientes menores de 40 años⁶¹.

- **Mosaicoplastia**

Se considera que este procedimiento es una prometedora alternativa para el tratamiento de defectos condrales y osteocondrales de pequeño y mediano tamaño⁶². Este método fue introducido por Hangody y cols.⁶³, en 1992 y consiste en la translocación al defecto articular de cilindros osteocondrales obtenidos de zonas poco comprometidas de la articulación. Con el seguimiento artroscópico hasta los 5 años⁶⁴ y los 10 años⁶⁵ del implante, se ha observado supervivencia del cartílago hialino trasplantado, congruencia

de las superficies articulares y reparación fibrocartilaginosa de las zonas donantes. Sin embargo; existen dudas sobre la morbilidad de la región donante, sobre si de verdad existen zonas de las que se pueda extraer el cartílago articular y qué problemas pueden surgir secundarios a esta agresión por la presencia de un defecto osteocondral resultante.

Con el fin de evitar la morbilidad en las zonas donantes, se desarrollaron las técnicas de aloinjertos osteocondrales, que además permiten tratar lesiones grandes y mal contenidas. Fue utilizada inicialmente por Garret⁶⁶ con grandes cilindros de 35 mm² y Bugbee y Covery⁶⁷ que publicaron excelentes resultados a largo plazo. La técnica precisa de la fijación del injerto, lo que compromete la superficie articular del mismo y como otros inconvenientes existe el riesgo del contagio de enfermedades, rechazo, mala incorporación y viabilidad celular limitada.

- **Técnicas de regeneración con células funcionantes.**

En vista a los resultados de las técnicas anteriores, se desarrolló un gran interés en el empleo de células activas o funcionantes con el objetivo de formar un tejido de reparación con estructura, composición y bioquímica y comportamiento funcional iguales que los del cartílago articular normal^{52, 68}. Las técnicas regenerativas incluyen el trasplante *pericondral autólogo*, *el trasplante perióstico autólogo* y *el trasplante de condrocitos autólogos (ACI)*.

La *implantación de condrocitos autólogos (ACI)* consiste en tomar una biopsia de cartílago autólogo de zonas poco comprometidas con la carga, mediante artroscopia. En el laboratorio se aíslan los condrocitos, que proliferan in vitro hasta obtener un número apropiado (10-12 millones de células) y posterior implantación sobre el defecto cartilaginosa bajo un parche de periostio autólogo⁶⁹ en una segunda intervención quirúrgica. La técnica la realizó Peterson y cols., por primera vez en 1987, siendo la primera aplicación de ingeniería tisular en cirugía ortopédica⁷⁰. En estudios anatomopatológicos parece que el trasplante de condrocitos autólogos es capaz de producir tejido parecido al cartílago hialino. No obstante, el tejido reparador mejor obtenido no es idéntico al cartílago hialino normal, ni morfológica ni histológicamente, hallándose fibrocartílago en cierta proporción de las muestras⁷¹. Es decir, que el ACI es capaz de inducir la regeneración del cartílago articular, probablemente por el reemplazo y la remodelación de una matriz inicial de fibrocartílago, mediante degradación enzimática y síntesis de colágeno de tipo II⁷².

Este tratamiento presenta algunas limitaciones⁵² como la necesidad de dos intervenciones quirúrgicas y la obtención del explante generando un daño secundario. La proliferación de los condrocitos debe ser limitada ya que las divisiones celulares disminuyen su capacidad de producir cartílago estable vivo, y con la edad disminuye la

densidad celular del cartílago, la capacidad de proliferación in vitro de los condrocitos y el potencial condrogénico del periostio.

A modo de resumen, podemos concluir que los resultados clínicos de las técnicas descritas anteriormente no aportan una mejoría sobre las técnicas convencionales, ya que no conducen a la formación de un neocartílago hialino en lugar de fibrocartílago^{52, 73}, aunque la mosaicoplastia y el ACI aporten un tejido de mayor calidad. Sin embargo, es cierto que han sido eficaces en la mejoría clínica y funcional de los pacientes, tanto a corto como a medio plazo.

Las células mesenquimales multipotenciales (CMM) constituyen actualmente una prometedora herramienta de reparación del cartílago articular, todavía en fase de experimentación⁵², dejando a un lado el empleo de condrocitos autólogos.

2.3. CÉLULAS MESENQUIMALES Y OSTEOARTROSIS.

Las lesiones del cartílago articular continúan siendo un reto para la medicina moderna, ya que en el adulto el cartílago tiene muy limitada capacidad de reparación espontánea y son altamente incapacitantes, predisponiendo además a una aparición temprana de artrosis (OA)⁷⁴.

La mayoría de las técnicas quirúrgicas actuales y expuestas anteriormente para el tratamiento de las lesiones condrales dan lugar a la formación de fibrocartílago con propiedades bioquímicas y biomecánicas inferiores a las del cartílago articular, siendo frecuente además que el tejido nuevo no se integre en la zona adyacente. Los resultados clínicos no han sido satisfactorios, principalmente a largo plazo, y no previenen la aparición de la OA.

La implantación de condrocitos autólogos cultivados en laboratorio han sido utilizados para el tratamiento de determinadas lesiones cartilaginosas localizadas con pobres resultados, pero en la actualidad es la medicina regenerativa la que ofrece una alternativa moderna para el tratamiento de esta lesión degenerativa cartilaginosa.

La medicina regenerativa se basa en el potencial de las células mesenquimales multipotenciales indiferenciadas (CMM) que se encuentran en distintos tejidos del organismo, que mediante un proceso de regeneración crean un nuevo tejido sustitutivo del lesionado o enfermo. Esto significa reparar la estructura cartilaginosa destruida no mediante un proceso de cicatrización sino mediante un proceso de regeneración, hecho que solamente se produce en el embrión y en la consolidación de las fracturas que sirve como ejemplo fisiológico para estas técnicas actuales de ingeniería tisular y genética que constituyen hoy en día una línea de investigación prioritaria en todo el mundo. Estas células pretenden regenerar el tejido lesionado mediante un proceso de quimiotaxis, proliferación y diferenciación celular hacia la estirpe celular del tejido lesionado, estimuladas y controladas por factores bioquímicos y probablemente también biofísicos.

Un punto a considerar en este tipo de terapia experimental es el tipo de andamio sobre el cual cultivar o sembrar las células para su implante, la adición o no de factores bioquímicos denominados factores de crecimiento y el vehículo que servirá para la implantación articular de las células cultivadas^{75, 76}.

Las células ideales para realizar este tipo de tratamiento deben permitir el acceso y obtención fácil, expansión y mantenimiento celular barato, provocando además una mínima morbilidad al paciente y con un bajo riesgo de respuesta inmune y transmisión de enfermedades al receptor. El uso de condrocitos autólogos fue el primer tipo de célula que se utilizó y revelaron su limitada supervivencia a largo plazo, y su capacidad

limitada para la regeneración del tejido cartilaginoso. Además, la morbilidad secundaria para obtener la muestra, el alto coste que supone, el limitado rendimiento celular y la baja calidad de las células, especialmente en pacientes de edad avanzada⁷⁴.

En la literatura de los últimos años, múltiples estudios han intentado comparar los resultados obtenidos en pacientes tratados con ACI o CMM derivadas sobre todo de médula ósea. Nedjanik *et al.*,⁷⁶ en un estudio observacional de cohortes concluye que ambas técnicas tienen una mejoría subjetiva en la calidad de vida y funcional de los pacientes, sin encontrar diferencias significativas en cuanto a resultados clínicos. Observaron peores resultados en pacientes mayores de 45 años con técnicas de ACI, pero sin relevancia clínica con respecto a las CMM procedentes de médula ósea; determinando finalmente que el uso de CMM derivadas de médula ósea era tan eficaz como los condrocitos en la reparación del cartílago articular, aunque sin dudas ofrecía ventajas de menor coste y morbilidad.

Jakobsen *et al.*,⁷⁷ diseñó un estudio experimental para comparar el poder condrogénico de los condrocitos y las CMM derivadas de médula ósea y del tejido adiposo, cultivados en andamios de ácido hialurónico. La relevancia clínica de este estudio es la elección de CMM derivadas de médula ósea sobre las derivadas del tejido adiposo como fuente para la condrogénesis, ya que en los medios de cultivo, la diferenciación condrogénica fue positiva produciendo niveles de colágeno de tipo II superiores que los condrocitos y las CMM derivadas de tejido adiposo.

Por todas estas razones, se ha eliminado prácticamente la utilización de los condrocitos y se piensa y estudia experimentalmente, la utilización de las células mesenquimales multipotenciales indiferenciadas como una fuente de células alternativa para la regeneración del cartílago, porque aparte de ser más rentables y producir menor morbilidad, pueden producir teóricamente resultados a largo plazo de igual o incluso superior eficacia^{76, 77}. Es una técnica que abre enormes expectativas terapéuticas por el enorme potencial que ofrece, siendo en la actualidad y como ya he comentado, una línea de investigación prioritaria a nivel mundial.

La ingeniería de tejidos se basa en el cultivo y expansión de CMM sembradas en estructuras o andamios tridimensionales biocompatibles y biodegradables que, con o sin ayuda de factores de crecimiento, dan lugar a la formación de tejido nuevo para reparar o regenerar la estructura y función de los tejidos lesionados o ausentes^{74, 75, 78}.

Las CMM son células multipotenciales y adultas con morfología fibroblastoide, capaces de acudir a la estructura lesionada, con alta tasa de proliferación y capacidad para diferenciarse hacia células de origen mesodérmico como osteocitos, condrocitos y adipocitos^{79, 80}. La médula ósea es la principal fuente de aislamiento de CMM, aunque se han aislado en tejido adiposo, periostio, membrana sinovial, músculo, vasos arteriales

etc⁸¹, siendo los tres primeros los más empleados. De esta manera, se han logrado establecer cultivos que han permitido estudiar sus propiedades funcionales y fenotípicas⁸¹.

Se considera que la mejor fuente de obtención es la médula ósea: 0.003% de las células mononucleadas de la médula ósea son CMM⁸², aunque esta cifra es variable en dependencia de la edad (más numerosas cuanto menor edad) pudiendo multiplicarse a grandes números *in vitro*. El método de obtención es menos agresivo que una biopsia de cartílago articular, y la diferenciación hacia cartílago se puede hacer *in vitro* modificando teóricamente las condiciones de los cultivos mediante el empleo de factores bioquímicos y farmacológicos o *in vivo*, en respuesta a un nuevo microambiente. Estas afirmaciones son teóricas, basadas en estudios experimentales, pues su aplicación a la clínica humana no está legalmente autorizada encontrándose en fase de desarrollo experimental.

Las CMM derivadas de la médula ósea han demostrado una mayor capacidad de diferenciación que las CMM derivadas del tejido adiposo⁷⁵. Afizah *et al.*,⁸³ compara el potencial condrogénico de las células mesenquimales obtenidas de médula ósea y del tejido adiposo derivadas del mismo paciente. Utilizando controles y criterios de inclusión estrictos durante todas las fases del estudio, concluye que el potencial condrogénico era significativamente mayor en las células mesenquimales derivadas de la médula ósea, donde solo ellas fueron capaces de sintetizar (a todos los niveles analíticos) colágeno de tipo II y proteoglicanos. Los resultados de este estudio se corresponden con los hallazgos obtenidos *in vitro* por otros estudios⁸⁴ y también con los de un estudio *in vivo* de los mismos autores⁸⁵.

Sin embargo, Nakamura *et al.*,⁸⁶ reseñó el elevado potencial condrogénico de las CMM alogénicas derivadas de membrana sinovial, en un estudio de trasplante de células mesenquimales sinoviales alogénicas para la reparación de defectos osteocondrales pequeños en cerdos. Este potencial ya se había observado previamente en otros animales de experimentación como ratas y conejos e incluso en humanos⁸⁷. La formación de matriz cartilaginosa sucede cuando se inyectan las CMM sinoviales en la lesión; sin embargo, el seguimiento fue solo de 3 meses, donde no se había terminado de formar el tejido de reparación completamente.

Lee y Hui⁸⁸, en el año 2006, publican un artículo de revisión sobre el origen y el potencial de las células madre en la cirugía ortopédica. Definen la “célula madre” como aquella célula con capacidad para regular la autorrenovación dando lugar a más células madre, y con capacidad de diferenciarse en condiciones apropiadas en diferentes líneas tisulares. Es decir, son células con una capacidad de diferenciación asimétrica generando en su reproducción nuevas CMM y células ya diferenciadas. Solo las células

del embrión son totipotenciales, mientras que las CMM son multipotenciales capaces de diferenciarse en células de tipo mesenquimal, fundamentalmente en las células del tejido que residen⁸⁹.

En ese mismo año, la Sociedad Internacional de Terapia Celular o ISCT (*International Society Cellular Therapy*) propuso tres criterios para definir a las células madre mesenquimales (CMM). En primer lugar, estas células deben ser adherentes en cultivo; como segundo criterio, deben expresar antígenos CD73, CD90, y CD105 en ausencia de antígenos hematopoyéticos como CD34, CD45, marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos B; y por último, las CMM deben ser capaces de diferenciarse *in vitro* en osteoblastos, adipocitos y condrocitos bajo condiciones estándar de cultivo^{82, 90}. Además, las CMM deben realizar procesos de autorrenovación; es decir, que durante la división celular solo una de las células hijas debe iniciar programas de renovación celular y deben ser capaces de desarrollar “plasticidad clonogénica” o diferenciación hacia tejidos de diferentes capas embrionarias como ectodermo y endodermo. Es la división asimétrica comentada anteriormente.

El número de divisiones mitóticas debe ser limitado porque durante el cultivo *in vitro* las CMM envejecen y experimentan una marcada disminución de su capacidad proliferativa y una pérdida gradual del potencial de diferenciación múltiple⁹¹. La edad del paciente también es importante, pues con el envejecimiento, además de haber un menor número de CMM en la médula ósea, estas tienen reducida su capacidad proliferativa. Diversos estudios señalan que las CMM comprenden subpoblaciones de células en diferentes estados de diferenciación y que en función del tejido del que se aíslan, su diferenciación puede variar⁸¹.

Además, las CMM son capaces de diferenciarse de acuerdo con el medio biológico en el que se encuentran y tienen la capacidad de movilizarse hacia los tejidos lesionados (quimiotaxis), hecho clínicamente demostrado en el proceso de consolidación de la fractura en el que las CMM, células a partir de las cuales comienza el proceso provienen no solamente de la médula ósea, sino también de los tejidos perifracturarios. Son escasos los trabajos sobre CMM utilizados para tratar lesiones condrales humanas. En rodillas con OA, se implantaron CMM embebidas en gel de colágeno en defectos condrales cerrados con membrana de periostio y tras 42 semanas, se observaron mejores resultados artroscópicos e histológicos que en los pacientes con OA sin implante, aunque esta mejoría no resultó tener repercusión clínica⁹².

En modelos experimentales se ha demostrado que las CMM son capaces de regenerar tejidos deteriorados o lesionados como hueso, cartílago, tejido hepático o miocardio; además de modular reacciones inmunes en colagenopatías, esclerosis múltiple, y trasplantes de médula ósea⁷⁹. Una vez que se avance en la identificación de las

diferentes funciones biológicas que pueden desempeñar las CMM *in vivo* y los mecanismos moleculares responsables de cada una de estas funciones, la medicina regenerativa ya no considerará tratamientos temporales para enfermedades degenerativas, sino soluciones terapéuticas a largo plazo y para una amplia variedad de patologías.

Sin embargo, hay que ser precavidos a la hora de interpretar los resultados de los diferentes estudios clínicos publicados sobre la reparación del cartílago articular y las diferentes técnicas propuestas, debido a la baja calidad metodológica que se utiliza en muchos de ellos. La mayoría de los estudios se basan en el tratamiento de lesiones condrales focales, de espesor completo y no de espesor parcial en las que no existe estimulación del hueso subcondral. La limitación del tamaño sigue siendo un problema, ya que el reto definitivo es alcanzar la reparación de lesiones difusas y de espesor parcial como sucede en la artrosis. Además, en la mayoría de los casos se dan por válidos y fiables resultados obtenidos de estudios realizados en un periodo de tiempo muy corto, la mayoría insuficientes para valorar la formación definitiva de un neocartílago hialino y su posterior viabilidad a largo plazo. Muchos análisis combinan diferentes técnicas terapéuticas, sobre todo de estimulación ósea (perforaciones, abrasión o microfracturas) con inyecciones intralesionales de células mesenquimales autólogas vehiculizadas en andamios tipo ácido hialurónico^{93,94}.

Estas circunstancias pueden llevarnos a conclusiones erróneas, ya que no se sabe si los resultados clínicos y funcionales positivos que se obtienen se deben al potencial de regeneración de tejidos de las CMM, al componente antiinflamatorio del ácido hialurónico o a la combinación de los tres.

Nishimori *et al.*⁹⁵, comparó los resultados de las perforaciones aisladas frente a las perforaciones asociadas a la inyección intraarticular de CMM derivadas de médula ósea, en defectos osteocondrales provocados en ratas. Los resultados histológicos fueron mejores en el grupo que combinó ambas opciones terapéuticas; sin embargo, el tejido de reparación formado no fue histológicamente similar al cartílago hialino normal, por lo que el proceso de reparación no era perfecto. Las células mesenquimales de médula ósea promovían la reparación del cartílago articular pero no garantizaban su curación.

En el año 2013, Wong KL *et al.*⁹⁶, demostró en un ensayo clínico prospectivo y aleatorizado, la efectividad de las CMM cultivadas y suspendidas en ácido hialurónico e inyectadas a nivel intraarticular en *genu-varus* artrósicos. Se trataba de lesiones amplias y difusas sin afectación del hueso subcondral, que además fueron sometidas a técnicas de microfractura y a una osteotomía tibial de realineación, para corregir el factor de riesgo artrósico de la hiperpresión compartimental medial.

En un modelo equino, Mellwraith *et al.*⁹⁷, ya había informado de un aumento significativo de la firmeza y calidad global del tejido de reparación a nivel artroscópico, en el tratamiento con CMM derivadas de médula ósea en comparación con la microfractura. No se evidenciaba mejoría clínica significativa pero plantearon que el uso clínico combinado de microfractura y CMM podía ser beneficioso. Tras 2 años de seguimiento, Wong KL *et al.*⁹⁷, demostró que el grupo de pacientes que había recibido CMM presentaban una mejoría clínica significativa a corto plazo, con imágenes de RM al año de mejor calidad de las lesiones cartilaginosas y a nivel histológico una mejor integración del tejido de reparación que en aquellos pacientes que solo habían recibido ácido hialurónico.

De cara a la posibilidad beneficiosa de la terapia combinada con CMM, en 2013 se puso en marcha un estudio piloto que pretendía determinar si verdaderamente las células mesenquimales derivadas de la médula ósea tenían efectos moduladores sobre el tejido resultante obtenido por las técnicas de estimulación de médula ósea⁹⁸. Este estudio sugirió al igual que los anteriores que la suplementación con inyecciones intraarticulares de células mesenquimales tras las técnicas de estimulación de médula ósea, ofrecía resultados superiores de la reparación del cartílago.

Basándonos en los estudios que emplean análisis histológicos, podemos confirmar que las CMM derivadas de médula ósea tienen un potencial condrogénico claro y que nos encontramos ante una alternativa eficaz para la formación de cartílago hialino a corto plazo, que podría ser el camino para alcanzar la reparación y regeneración definitiva de lesiones mayores en un futuro próximo, con resultados a largo plazo más prometedores.

Murphy y cols.⁹⁹, en el 2003 diseñaron un estudio para evaluar la utilidad de las células mesenquimales en el retraso de las lesiones artrósicas de una rodilla lesionada, en un modelo de experimentación caprino. Lo hicieron mediante la inyección intraarticular de células madre autólogas marcadas, obtenidas de la médula ósea caprina utilizando como vehículo el ácido hialurónico. La inducción de la artrosis se hizo unilateral a través de la escisión completa del menisco medial y resección del ligamento cruzado anterior. Tras 6 semanas se procedió a la inyección intraarticular de las células autólogas vehiculizadas y el resultado final fue una importante regeneración del menisco medial con ausencia de reparación de LCA y reducción de los signos degenerativos articulares como la formación de osteofitos y la esclerosis subcondral. No pudieron demostrar una reparación y regeneración completa del cartílago articular normal, pero sí un retraso de la destrucción progresiva normal del cartílago en este modelo de artrosis.

Recientemente, Kevin BL *et al.*¹⁰⁰, publicó por primera vez en la literatura un estudio de investigación con modelos porcinos, de regeneración directa de un gran defecto condral de espesor parcial, a partir de la inyección intraarticular directa de células madre

mesenquimales derivadas de medula ósea, suspendidas en ácido hialurónico. Se realizó un análisis morfológico e histológico en el que a las 12 semanas observaron la reparación del defecto condral con formación de cartílago hialino bien integrado, de espesor completo y superficie homogénea, en comparación del fibrocartílago formado en los controles tratados exclusivamente con ácido hialurónico. Llegaron a la conclusión de que las inyecciones de CMM en suspensión con ácido hialurónico es una opción viable en el tratamiento de defectos cartilagosos de gran tamaño. Son conscientes de que se necesitan más ensayos clínicos y seguimientos a largo plazo que apoyen la persistencia y viabilidad del neocartílago formado y su posible aplicación en lesiones condrales difusas similares a las de la artrosis primaria, así como su aplicación en otros modelos experimentales que simulen lo más parecidamente posible las lesiones condrales humanas.

Gobbi A. *et al.*¹⁰¹, siguió durante un mínimo de 3 años, la evolución clínica de un grupo de pacientes activos con grandes defectos condrales de espesor total de la rodilla, tratados con una sola cirugía usando células mesenquimales derivadas de médula ósea y una matriz de segunda generación. Al final del estudio observó que todos los valores clínicos recogidos habían mejorado significativamente, y que los resultados eran mejores en pacientes menores de 45 años y con lesiones más pequeñas o individuales. Las imágenes de RM mostraron un relleno completo y estable de la lesión en la mayoría de los pacientes y en el estudio histológico se confirmó cartílago hialino. Aunque el estudio presenta numerosas limitaciones, demuestra que la terapia con células mesenquimales para la reparación del cartílago articular es posible y, dado el tamaño de las lesiones, abre una puerta a la esperanza para seguir planteando nuevos ensayos clínicos, mejor controlados, hacia el tratamiento de lesiones difusas del cartílago articular.

En resumen, las CMM constituyen en la actualidad una terapia muy atractiva, si bien teórica, para la regeneración del cartílago articular debido a su proliferación prácticamente ilimitada y su capacidad de diferenciación. Sin embargo; el empleo de CMM es éticamente muy controvertido por su alto potencial para la inestabilidad genética y la oncogenicidad, alta en las células madre embrionarias pero escasa y limitada en las CMM. No obstante, los investigadores han demostrado la capacidad de estas células para regenerar cartílago hialino¹⁰². La ingeniería genética está estudiando inducir las CMM mediante la transducción viral, que sería difícil de traducir a las aplicaciones clínicas. La capacidad y las limitaciones de las células inducidas genéticamente para formar cartílago deben ser más investigadas antes de sacar conclusiones sobre su utilidad⁷⁵.

Las estrategias en ingeniería de tejidos, generalmente emplean estructuras tridimensionales o matrices sobre las cuales, las células se reorganizan y forman un

tejido nuevo. La matriz ideal para formar cartílago debe ser reproducible, tridimensional, con estructura porosa que permita la distribución uniforme, debe permitir la adhesión celular, degradarse homogéneamente y ser biocompatible. Los materiales pueden ser biológicos, como geles y esponjas de colágeno, pegamentos de fibrina, hialuronatos, alginato y agarosa; o sintéticos como el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poliláctico (PLA) y sus copolímeros (PGLA), la polidioxanona (PDS) y otros hidrogeles termo y fotopolimerizables^{Error! Marcador no definido.}.

Por otro lado, hace muchos años que se han estudiado un amplio número de factores de crecimiento que influyen en la diferenciación celular de las CMM. Los mejores inductores de la condrogénesis son los miembros de la familia del factor de crecimiento transformante beta (TGF β), entre ellos la BMP2, la BMP4 y el TGF β 1. La exposición de células mesenquimales de equino a TGF β 1 induce la expresión de colágeno de tipo II en cultivos en monocapa¹⁰³, y los cultivos de CMM de alta densidad en presencia de TGF β se diferencian rápidamente a condrocitos maduros¹⁰⁴.

Las técnicas de cultivo en monocapa para la multiplicación celular se deben llevar a cabo de forma cuidadosa y exhaustiva lo que supone un coste elevado y que en ocasiones puede suponer una barrera para la industrialización. Recientemente, algunos investigadores han empezado a estudiar técnicas de cultivo libre de CMM derivadas de médula ósea, comparándolas con métodos de cultivo estándar, con resultados todavía en fases de ensayo clínico¹⁰⁵.

Para concluir, el pasado año, Filardo G. *et al.*¹⁰⁶, publicó una revisión sistemática con el objetivo de examinar la evidencia clínica disponible en la literatura científica, que apoye las estrategias de tratamiento con células madre mesenquimales en la reparación de las lesiones cartilaginosas. Se trata de una interesante revisión, que recoge las publicaciones sobre el tema desde el año 2002 en la base de datos de PubMed.

Confirma nuestra reflexión acerca de la baja calidad de los estudios clínicos publicados. A pesar del creciente interés sobre el tratamiento biológico para la regeneración del cartílago, el conocimiento acerca de este tema aún es preliminar como se muestra por la prevalencia de los estudios preclínicos y la baja calidad de los estudios. Se tienen que optimizar y controlar aleatoriamente muchos aspectos y se necesitan más ensayos clínicos para apoyar el potencial de este tratamiento y evaluar las ventajas y desventajas con respecto a los tratamientos disponibles.

Aun así, los estudios disponibles en la actualidad sobre el tratamiento basado en células mesenquimales multipotenciales presentan un enorme potencial para poder desarrollarse en muchas direcciones. Las CMM en la regeneración del cartílago articular, representan un enfoque nuevo y prometedor con interesantísimos hallazgos preliminares que van desde la reparación de los defectos condrales focales hasta la regeneración articular

completa (artrosis). No obstante, quedan todavía muchos aspectos controvertidos que tienen que ser aclarados y que abarcan la fuente de obtención celular, sus propiedades y rendimiento, el control de la condrogénesis, su interacción con el medio adyacente y la diferenciación, hipertrofia y posibilidad oncogénica de las mismas.

3. PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: ESTUDIO DE LA REGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR MEDIANTE CÉLULAS MESENQUIMALES.

3.1. OBJETIVOS

El objetivo principal es estudiar la regeneración del cartílago articular del animal de experimentación (caballos) mediante la infiltración intraarticular de células mesenquimales alogénicas. Además, observaremos si existe una correlación radiológica y anatomopatológica del tejido formado.

3.2. MATERIAL Y METODOS

MODELO DE LESIÓN: 20 mg anfotericina B /articulación radio-carpiana. Dos inyecciones separadas 1 semana.

GRUPOS DE ANIMALES:

Tres grupos:

- **Grupo control**: 4 animales. Sin tratamiento. Infiltraciones equivalentes con Ringer Lactato.
- **Grupo MSC-i**: 8-9 animales. Recibirán tratamiento con MSCs alogénicas preinducidas con un cocktail de citoquinas (INFg y TNFa).
- **Grupo MSC-noi**: 8-9 animales. Recibirán tratamiento con MSCs alogénicas no inducidas.

DOSIS DE MSCs y TIEMPOS:

Dos dosis de MSC (**10 millones** MSCs/dosis). La primera dosis a los **15 días (2 semanas)** de inducir la lesión, cuando se encuentra en fase aguda. La segunda dosis se aplicaría **3 semanas después** de la primera, es decir, 5 semanas después de haber inducido la artritis.

La lesión se creará en las dos patas pero en tiempos distintos para hacer valoración “aguda” y “crónica”. Inducir la lesión en **una sola pata al principio**, que será la de “**valoración crónica**” (“**pata crónica**”) (**6 meses desde la inducción de la lesión**,

tiempo 2). **2 meses antes del sacrificio** de los animales, inducir la lesión en la otra pata para poder realizar la “**valoración aguda**” (“**pata aguda**”, 3 semanas tras la 2ª dosis de MSCs, es decir, **8 semanas-2 meses desde la inducción de la lesión**, tiempo 1).

Resumen:

Día 0: Inducir lesión para valoración “crónica” (“pata crónica”)

(+2s) 2 semanas: 1ª dosis MSCs “pata crónica”

(+3s) 5 semanas: 2ª dosis MSCs “pata crónica”

(+3m) 4 meses: Inducir lesión para valoración “aguda” en la otra pata (“pata aguda”)

(+2s) 4 meses y 2 semanas: 1ª dosis MSCs “pata aguda”

(+3s) 4 meses+5 semanas: 2ª dosis MSCs “pata aguda”

(+3s) 6 meses: Sacrificio del animal

MSCs (Mesenchymal Stem Cell) A UTILIZAR:

MSCs de **médula ósea** y **alógenicas**. Acordamos hacer un **pool** de varios donantes (5-6 animales) distintos a los que recibirán el tratamiento. Los donantes serán los animales del grupo control (4) y otros 2 ponis ajenos al estudio.

VALORACIÓN DEL TRATAMIENTO CON MSCs:

- **Valoración clínica:**

Radiografías: proponemos realizar una a tiempo 0 y a tiempo final (antes del sacrificio). Proyecciones frontal, lateral, ¿skyline línea proximal carpo?

Ecografía: valorar la sinovitis y superficie articular.

Resonancia magnética: posibilidad de llevar a examinar las extremidades de los animales ya sacrificados. Se trata de una opción muy interesante cuyos detalles están por concretar. Habría que llevar las patas lo más rápido posible tras el sacrificio para después recoger tejido articular sin que sufra degradación.

Anatomía patológica (macroscopía e histopatología): del **cartílago** y de la **membrana sinovial**.

Expresión génica de los tejidos articulares (cartílago y membrana sinovial): analizar por **qRT-PCR** la expresión de mRNA en sinoviocitos y condrocitos de distintos marcadores.

- **Análisis de líquido sinovial:**

Análisis macroscópico: aspecto, color, viscosidad, turbidez...

Contaje de células blancas

Cuantificación de proteínas totales

Cuantificación de mediadores de la inflamación mediante ELISA. Propuestos (kit comercial disponible y probado en líquido sinovial de caballo): IL6, TGFB, PGE2 TNFa, IL1B.

Cuantificación de proteínas de fase aguda (PFA): haptoglobina. Otras PFA como el amiloide sérico A (SAA) o el fibrinógeno también estarían disponibles por ELISA (kit comercial).

Tiempos valoración:

T0 (antes de anfotericina)

T1 (inmediatamente antes de 1ª dosis MSCs)

+ 1 semana

+ 2 semanas

+ 3 semanas (inmediatamente antes de 2º inyección MSCs)

+10 días

+ 20 días

Antes del sacrificio: repetir lo que se pueda a nivel sinovial

Marcadores sistémicos de inflamación: proteínas de fase aguda en suero (haptoglobina).

3.3. OBSERVACIONES

El presente estudio es el prolegómeno de un proyecto de investigación para la tesis doctoral. Actualmente, estamos en la fase de desarrollo y experimentación, por lo que

Proyecto Fin de Máster “Introducción a la Investigación en Medicina”

Estudio de la regeneración del cartílago articular mediante células mesenquimales

Lucía López Sagasta

nos es imposible presentar ningún dato, resultados ni conclusiones sobre el estudio experimental.

4. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Mankin HJ. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surg Am* 1982;64:460-466.
- ² Tuli R, Seghatoleslami MR, Tuli S et al. A simple high-yield method for obtaining multipotential mesenchymal progenitor cells from trabecular bone. *Mol Biotechnol* 2003; 23: 37-49.
- ³ Tuan RS. Biology of developmental and regenerative skeletogenesis. *Clin Orthop* 2004; 427S: S105-S117.
- ⁴ Hunziker E, Michel M, Studer D. Ultrastructure of adult human articular cartilage matrix after cryotechnical processing. *Microsc Res Tech* 1997; 37:271.
- ⁵ Langer F, Gross AE. Immunogenicity of allograft articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1974; 56A: 297-304.
- ⁶ Levy AS, Meier SW. Approach to cartilage injury in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *Orthop Clin N Am* 2003; 34:149-167.
- ⁷ Akeson WH. Cartilago articular y sus características de rigidez. En: Pedowitz RA, O'Connor JJ, Akeson WH. *Daniel's Lesiones de Rodilla: estructura, función, daño y reparación de cartílagos y ligamentos*. Ed. Philadelphia: Marban, S.L. (edición en español); 2010. p. 101-103.
- ⁸ Davis JT, Jones DG. Treatment of knee articular cartilage injuries. *Curr Opin Orthop* 2004;15:92-99.
- ⁹ Poole CA. The structure and function of articular cartilage matrices. In Woessner JFJ, Howell DS, eds: *Joint Cartilage Degradation. Basic and Clinical Aspects*. New York, Marcel Dekker, 1993, p 1.
- ¹⁰ Hasler EM, Hergoz W, Wu JZ. Articular cartilage biomechanics: theoretical models, material properties and biosynthetic response. *Critical Reviews in Biomedical Engineering* 1999;27:415-484.
- ¹¹ Simon W. Scale effects in animal joints. I. Articular cartilage thickness and compressive stress. *Arthritis Rheum* 1970;13:244.
- ¹² Bergmann G, Graichen F, Rohlmann A. Hip joint loading during walking and running, measured in two patients. *J Biomech* 1993;26:969.
- ¹³ Korver THV, Vandestadt RJ, Kiljan E et al. Effects of loading on the synthesis of proteoglycans in different layers of anatomically intact articular cartilage in vitro. *J Rheumatol* 1992;19:905.
- ¹⁴ Caterson B, Lowther D. Changes in the metabolism of the proteoglycans from sheep articular cartilage in response to mechanical stress. *Biochim Biophys Acta* 1978;540:412.
- ¹⁵ Schmidt M, Schoonbeck J, Mow V. The relationship between collagen crosslinking and the tensile properties of articular cartilage. *Trans Orthop Res Soc* 1987;12:134.
- ¹⁶ Juverlin J, Wong M, Arokoski J et al. Importance of the superficial tissue layer on the indentation stiffness of articular cartilage. *J Biomech* 1999, submitted.
- ¹⁷ Hunter W. On the structure and diseases of articulating cartilage. *Philos Trans R Soc London B Biol Sci* 1973;9:267.
- ¹⁸ Paget J. Healing of injuries in various tissues. *Lect Surg Pathol T* 1853;262
- ¹⁹ Maletius W, Messner K. The effect of partial meniscectomy on the long-term prognosis of knees with localized, severe chondral damage. *Am J Sports Med* 1996;24:258.
- ²⁰ Tuan RS, Boland G, Tuli R. Mesenchymal stem cells and cartilage tissue engineering. *Arthr Res Ther* 2002;5:32-45.
- ²¹ Ulrich Winther M, Mahoney MD, Schwarz EM et al. *Biología del cartílago articular*. *J Am Acad Orthop Surg* (Ed Esp) 2004;3:49-58.
- ²² Bobic V, Noble J. Articular cartilage to repair or not to repair. *J Bone Joint Surg* 2000; 82B:165-166.
- ²³ Shindle MK, Foo LF, Kelly BT et al. Magnetic resonance imaging of cartilage in the athlete: current techniques and spectrum of disease. *J Bone Joint Surg* 2006;88A: Suppl 4:27-46.
- ²⁴ Manaster BJ, Johnson T, Narahari U. Imaging of cartilage in the athlete. *Clin Sports Med* 2005;24:13-37.
- ²⁵ Brittberg M, Winalsky CS. Evaluation of cartilage injuries and repair. *J Bone Joint Surg* 2003;85A (Suppl 2):58-69.
- ²⁶ Outerbridge RE. The etiology of chondromalacia patellae 1961. *Clin Orthop* 2001;389: 5-8.
- ²⁷ Noyes FR, Stabler CL. A system for grading articular cartilage lesions at arthroscopy. *Am J Sports Med* 1989;17:505-513.

- ²⁸ Ayral X, Dougados M, Lustrat V et al. Condroscopy: a new method for scoring chondropaty. *Sem Arthr Rheum* 1993; 22: 289-297.
- ²⁹ Smith GD, Taylor J, Almqvist KF et al. Arthroscopic assessment of cartilage repair: a validation study of 2 scoring systems. *Arthroscopy* 2005;21:1462-1467.
- ³⁰ Kendell SD, Helms CA, Rampton JW et al. MRI appearance of chondral delamination injuries of the knee. *AJR Am J Roentgenol* 2005;184:1486-1489.
- ³¹ Raya JA, Albareda J, Tornero J. Artrosis. Generalidades. Curso C.O.T.
- ³² Nejadnik H, Heike E. Engineering stem cells for treatments of osteocondral defects. *Skeletal Radiol* 2012;41:1-4.
- ³³ Scher D, Stolerman E, DiCesare P. Biologic markers of arthritis. *Am J Orthop* 1996;25:263.
- ³⁴ Guilak F, Ratcliffe A, Lane N et al. Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of cartilage in canine experimental osteoarthritis. *J Orthop Res* 1994;12:474.
- ³⁵ Rubio Torres JA, Villarrubia Garcia, E. Artrosis. En: Guerado E, Hernández D, Marco F, Matamalas A, Nardi J, editores. Manual del Residente C.O.T. Tomo 1. Ed: Madrid: Gráficas Marte, S.A; 2009. p. 223-228.
- ³⁶ Lippello L, Woodward J, Karpman R, Hammed TA. In vivo chondroprotection and metabolic synergy o glucosamine and chondroitinsulfate. *Clin Orthop* 2000;381:229-240.
- ³⁷ Evanich JD, Evanich CJ, Wright MB, Rydlewicz JA. Efficacy of intraarticular hyaluronic acid injections in knee osteoarthritis. *Clin Orthop* 2001;390:173-181.
- ³⁸ Friziero L, Govoni E, Bacchini P. Intraarticular hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee: clinical and morphological study. *Clin Exp Rheum* 1998;16:444-449.
- ³⁹ Gutierrez-Ibarzuela I, Ibagoyen-Roteta N, Benguria-Arrate G, Rada D, Mateos M, Regidor I et al. Sysadoas. Condroprotectores en el tratamiento de la artrosis. Ministerio de sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País vasco; 2013. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias: OSTEBA.
- ⁴⁰ Khosbhin A, Leroux T, Wasserstein D et al. The efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of symptomatic knee osteoarthritis: asystematic revie with quantitative synthesis. *Arthroscopy* 2013;29:2037-2048.
- ⁴¹ Patel S, Dhillon MS, Aggarwal S et al. Treatment with platelet-rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: a prospective, double blind rabndomized trial. *Am J Sports med* 2013, 41: 356-364.
- ⁴² Say F, Gürler D, Yener K, Bülbül M, Malkoc M. Platelet rich plasma injection irs more effective than hyaluronic ascid in the treatment of knee osteoarthritis. *Acta Chir Orthop Traumatol Chec* 2013;80:278-283.
- ⁴³ Chang KV, Hung CY, Aliwarga F et al. Comparative effectiveness of platelet-rich plasma injections for treating knee joint cartilage degenerative pathology: A Systematic review and meta-analysis. *Arch Phys Med Rehabil* 2013;13:1212-1214.
- ⁴⁴ Smyth NA, Murawski CD, Fortier LA et al. Platelet-rich plasma in the pathologic process of cartilage: review of basic science evidence. *Arthroscopy* 2013;29:1399-1409.
- ⁴⁵ Smelter E, Hochberg MC. New treatments for osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2013;25:310-316.
- ⁴⁶ Burman MS, Finkelstein H, Mayer L. Arthroscopy of the knee. *J Bone Joint Surg* 1934;16:255.
- ⁴⁷ Magnuson PR. Technique of debridement of the knee joint for arthritis. *Surg Clin N Am* 1946;26:249-266.
- ⁴⁸ Evans CH, Mazzocchi RA, Delson DD et al. Experimental arthritis induced by intra-articular inyection of allogenic cartilaginous particles into rabbit knees. *Arthritis Rheum* 1984;27:200-207.
- ⁴⁹ Kim HKW, Moran ME, Salter RB. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by condral shaving and subcondral abrasión an experimental investigation in rabbits. *J Bone Joint Surg* 1991;73:1301-1315.
- ⁵⁰ Schmidt A, Schmidt F. Results after cartilage shaving studied by electromicroscopy. *Am J Sports Med* 1987;15:386-387
- ⁵¹ Buckwalter J, Lohmander S. Operative treatment of osteoarthrosis: current practice and future development. *J Bone Joint Surg* 1994;76A:1405-1418.

- ⁵² Fuentes-Boquete IM, Arufe Gonda MC, Díaz Prado SM, Hermdia Gómez T, Toro Santos FJ, Banco García FJ. Tratamiento de las lesiones del cartílago articular. *Reumatol Clin* 2007;3 Supl 3:S63-69.
- ⁵³ Pridie A. The method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg* 1959;41:618.
- ⁵⁴ Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1993;75:532-553
- ⁵⁵ Mitchel N, Shepard N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforation through the subchondral bone. *J Bone Joint Surg Am* 1976;58:230-233.
- ⁵⁶ Johnson LL. Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathologic perspective: present status. *Arthroscopi* 1986;2:54-96.
- ⁵⁷ Blevins FT, Steadman JR, Rodrigo JJ et al. Treatment of articular cartilage defects in athletes: an analysis of functional outcome and lesion appearance (see comments). *Orthopedics* 1998;21:7:761-767; discussion 767-768.
- ⁵⁸ Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK et al. The microfracture technic in the management of complete cartilage defects in the knee joint. *Orthoped* 1999;28:26-32.
- ⁵⁹ Steadman JB, Briggs KK, Rodrigo JJ. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. *Arthroscopy* 2003;19:437-484.
- ⁶⁰ Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC, Drogset JO, Grontvedt T, Solheim E et al. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2004;86:455-464.
- ⁶¹ Kreuz PC, Erggelet C, Steinwachs MR, Krause SJ, Lahm A, Niemeyer P et al. Is microfracture of chondral defects in the knee associated with different results in patients aged 40 years or younger?. *Arthroscopy* 2006;22:1180-1186.
- ⁶² Bartha L, Vadja A, Duska Z, Rahmeh H, Hangody L. Autologous osteochondral mosaicplasty grafting. *J Orthop Sports Phys Ther* 2006;36:739-750.
- ⁶³ Hangody L, Kish G, Karpati Z et al. Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects: a preliminary report. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1997;5:262-267.
- ⁶⁴ Chow Jc, Hantes ME, Houle JB, Zalavras CG. Arthroscopic autogenous osteochondral transplantation for treating knee cartilage defects: a 2- to 5- year follow-up study. *Arthroscopy* 2004;20:681-690.
- ⁶⁵ Hangody L, Fules P. Autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of full-thickness defects of weight-bearing joints: ten years of experimental and clinical experience. *J Bone Joint Surg* 2003;85(Suppl 2):25-32.
- ⁶⁶ Garret JC. Fresh osteochondral allografts for treatment of articular defects in osteochondritis dissecans of the lateral femoral condyle in adults. *Clin Orthop* 1994;303:33-37.
- ⁶⁷ Bugbee WD, Convery FR. Osteochondral allograft transplantation. *Clin Sports Med* 1999;18:67-75.
- ⁶⁸ Khan WS, Johnson DS, Hardingham TE. The potential of stem cells in the treatment of knee cartilage defects [Review]. *The Knee* 2010;100:369-374.
- ⁶⁹ Brittberg M, Thalheden T, Sjørgen Jansson B et al. Autologous chondrocyte used for articular cartilage repair: an update. *Clin Orthop* 2001; (suppl 1):S337-S348.
- ⁷⁰ Peterson L, Minas T, Brittberg M, Lindahi A. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J Bone Joint Surg* 2003;85A: (Suppl 2): S17-S24.
- ⁷¹ Roberts S, McCall IW, Darby AJ et al. Autologous chondrocyte implantation for cartilage repair monitoring its success by magnetic resonance imaging and histology. *Arthritis Res Ther* 2003;5:60-70.
- ⁷² Peterson L, Minas T, Brittberg M, Nilsson A, Sjørgen-Jansson O et al. Two- to 9 year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop* 2000;374:212-234.
- ⁷³ Levy AS, Meier SW. Approach to cartilage injury in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *Orthop Clin N Am* 2003;34:149-167.
- ⁷⁴ Musumeci G, Castrogiovanni P, Leonardi R, Trovato FM, Szychlinska MA, Di Giunta A et al. New perspectives for articular cartilage repair treatment through tissue engineering: A contemporary review. *World J Orthop* 2014;5(2):80-88.
- ⁷⁵ Nejadnik H, Heike E. Engineering stem cells for treatments of osteochondral defects. *Skeletal Radiol* 2012;41:1-4.

- ⁷⁶ Nedjanik H, Hui JH, Choong EPF, Tai EC, Lee EH. Autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation: an observational cohort study. *Am J Sports Med* 2010;38:1110-1116.
- ⁷⁷ Jakobsen RB, Shahdadfar A, Reinbot FP, Brinchmann JE. Chondrogenesis in a hyaluronic acid scaffold: comparison between chondrocytes and MSC from bone marrow and adipose tissue [Experimental study]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010;18:1407-1416.
- ⁷⁸ Vacanti CA. The history of tissue engineering. *J Cell Mol Med*. 2006;10:569-576.
- ⁷⁹ Caplan AL. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991;9:641-650.
- ⁸⁰ Arévalo Romero JA, Páez Gerrero DM, Rodríguez pardo VM. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. Artículo de revisión. ISSN 2007;5: 101-212.
- ⁸¹ Fuentes-Boquete IM, Arufe Gonda MC, Díaz Prado SM, Hermdia Gómez T, Toro Santos FJ, Banco García FJ. Tratamiento de las lesiones del cartílago articular. *Reumatol Clin* 2007;3 Supl 3:S63-69.
- ⁸¹ Brandt KD. Mechanism of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Rheumatol Suppl* 1991;27:120-121.
- ⁸² Beyer N, Da Silva L. Mesenchymal Stem Cells: Isolation in vitro Expansion and Characterization. *Handb Exp Pharmacol* 2006;174:249-282.
- ⁸³ Afizah H, Yang Z, Hui HP, Ouyang HW, Lee EH. A Comparasion Between the Condrogenic Potential of Human Bone Marrow Stem Cells (BMSCs) and Adipose-Derived Stem Cells (ADSCs) Taken from the Same Donors. *Tissue Eng* 2007;13:659-666
- ⁸⁴ Huang JI, Kazmi N, Durbhakula MM, Hering TM, Yoo JU, Johonstone B. Chondrogenic potential of progenitor cells derives from human bone marrow and adipose tissue: a patient-matched comparision. *J Orthop Res* 2005;23:1383
- ⁸⁵ Hiu HP, Li L, Teo YH, Ouyang HW, Lee EH. Comparative study of the ability of mesenchymal stem cells derived from bone marrow, periosteum, and adipose tissue in treatment of partial growth arrest in rabbits. *Tissue Eng* 2005;11:904.
- ⁸⁶ Nakamura T, Sekiya I, Muneta T, Hatsushika D, Horie M, Tsuji K et al. Arthroscopic, histological and MRI analyses of cartilage repair after minimally invasive method of transplantation of allogeneic synovial mesenchymal stromal cslls into cartilage defects in pigs. *Cytherapy* 2010;14:327-338.
- ⁸⁷ Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, Muneta T. Comparasion of human stem cells derives from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum* 2005;52:2521-2529.
- ⁸⁸ Lee EH, Hui JHP. The potential of stem cells in orthopedic surgery. Review article. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88B:7:841-851.
- ⁸⁹ Bongso A, Lee EH. Stem-cells: their definition, classification and sources. In: Bongso A, Lee EH, eds. *Stem cells: from bench to bedside*. Singapore: World Scientific Publishing. 2005:1.
- ⁹⁰ Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Staper Cortenbach I, marini F, Krause D et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international Society for Cellular Therapy position statement. *Cytherapy* 2006;8:315-317.
- ⁹¹ Banfi A, Muraglia A, Dzin B, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Quarto R. Proliferation kinetics and differentiation potential of ex vivo expanded human bone marrow stromal cell: Implications for their use in cell therapy. *Exp Hematol* 2000;28:707-715.
- ⁹² Wakitani S, Imoto K, Yamamoto T, Saito M, Murata N, Yoneda M. Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10:199-206.
- ⁹³ Lee KBL, Wang VTZ, Chan YH, Hui JHP. A novel, minimally-invasive technique of cartilage repair in the human knee using arthroscopi microfracture and injections of mesenchimal stem cells and hyaluronic acid. A prospective comparive study on safety and shot term efficacy [original article]. *Annals Academy of Medicine* 2012;41:511-517.
- ⁹⁴ Saw KY, Hussin P, Loke CC et al. Articular cartilage regeneration with autologous marrow aspirate and hyaluronic acid: an experimental study in a goat model. *Arthroscopy* 2009; 25:1391-1400.
- ⁹⁵ Nishimori M, Deie M, Kanaya A, Exham H, Adachi N, Ochi M. Repair of chronic osteocondral defects in the rat. *J Bone Joint Surg [Br]* 2006;88:1236-1244.
- ⁹⁶ Wong LK, Lee KBL, Tai BC, Lee EH, Hui JHP. Injectable cultured bone marrow derived mesenchymal stem cells in varus knees wiyh cartilage defects undergoing high tibial osteotomy: a

prospective, randomized controlled clinical trial with 2 years' follow-up. *Arthroscopy* 2013;29:2020-2028.

⁹⁷ McIlwraith CW, Frisbie DD, Rodkey WG, Kisiday JD, Werpy NM, Kawcak CE et al. Evaluation of intra-articular mesenchymal stem cells to augment healing of microfractured chondral defects. *Arthroscopy* 2011;11:1552-1561.

⁹⁸ Nam HY, Karunanithi P, Loo WCP, Naveen SV, Chen HC, Chan L, Kamarul T. The effects of staged intra-articular injection of cultured autologous mesenchymal stromal cells on the repair of damaged cartilage: a pilot study in caprine model [research article]. *Arthritis Research & Therapy* 2013;15:R129.

⁹⁹ Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem Cell Therapy in a Caprine model of Osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2003;48:3464-3474.

¹⁰⁰ Lee KBL, Hui JHP, Song IC, Ardany L, Lee EH. Inyectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects: a porcine model. *Stem Cells* 2007;25:2964-2971.

¹⁰¹ Gobbi A, Karnatzikos G, Sankineani SR. One-step surgery with multipotent stem cells for the treatment of large full-thickness chondral defects of the knee. *Am J Sports Med* 2014;42:648-657.

¹⁰² Toh WS, Lee EH, Guo XM, Chan JK, Yeow CH, Choo AB et al. Cartilage repair using hyaluronan hydrogel-encapsulated human embryonic stem cell-derived chondrogenic cells. *Biomaterials* 2010;31;(27):6968-6980.

¹⁰³ Worster AA, Nixon AJ, Brower-Toland BD, Williams J. Effect of transforming growth factor beta1 on chondrogenic differentiation of cultured equine mesenchymal stem cells. *Am J Vet Res* 2000;61:1003-1010.

¹⁰⁴ Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:568-584.

¹⁰⁵ Nakamura N, Hui MDJ, Koizumi K, Yasui Y, Nishii T, Dnyanesh L et al. Stem cell Therapy in cartilage repair culture and cell culture based methods. *Oper Tech Orthop* 2014;24:54-60.

¹⁰⁶ Filardo G, Madry H, Jelic M, Roffi A, Cucchiari M, Kon E. Mesenchymal stem cells for the treatment of cartilage lesions: from preclinical findings to clinical application in orthopaedics. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2013;21:1717-1729.