



**Facultade de Enfermaría e Podoloxía**  
**UNIVERSIDADE DA CORUÑA**

**GRAO EN PODOLOXÍA**

**Curso académico 2014/2015**

**TRABALLO DE FIN DE GRAO**

**Revisión bibliográfica: Potencial terapéutico  
de las células madre mesenquimales en el  
tratamiento de las patologías articulares.**

**Adrián Álvarez Novo**

**22/06/2015**

**Directora del trabajo: Mónica Folgueiro Otero**

**Co-Directora: María del Carmen De Andrés González**

**Índice:**

<b><u>Resumen estructurado:</u></b> .....	4
<b><u>Introducción:</u></b> .....	8
<b><u>Formulación de la pregunta del estudio</u></b> .....	10
<b><u>Objetivos</u></b> .....	11
<b><u>Material y métodos</u></b> .....	12
Palabras clave .....	12
Criterios de inclusión y exclusión.....	12
Bases de datos.....	13
<b><u>Resultados</u></b> .....	19
Resúmenes de los trabajos analizados: .....	21
<b><u>Discusión</u></b> .....	43
<b><u>Conclusiones</u></b> .....	46
<b><u>Agradecimientos</u></b> .....	47
<b><u>Bibliografía</u></b> .....	48

## **Resumen estructurado:**

### **Introducción:**

Las patologías articulares tienen una alta prevalencia en la población adulta, causando dolor y una progresiva limitación en la movilidad. Los tratamientos disponibles son simplemente paliativos pero en ningún caso detienen el progreso de la enfermedad. Ésto se debe en gran medida a la escasa capacidad de regeneración de los tejidos que forman la articulación, cartílago y hueso. Ciertos casos hacen necesario recurrir a la cirugía de sustitución para mejorar la movilidad del individuo. Sin embargo, el reemplazo articular es altamente invasivo, costoso y no definitivo, con una vida media de 10-15 años. Recientemente la terapia de regeneración con células madre mesenquimales adultas se perfila como el tratamiento del futuro.

### **Metodología:**

En el presente trabajo realizamos una revisión bibliográfica sobre el estado actual de las investigaciones con células madre mesenquimales adultas para el tratamiento de patologías articulares. Para ello recurrimos a artículos científicos y de revisión, obtenidos a través de las principales bases de datos de ciencias de la salud y publicados en los últimos diez años. Nos centraremos en los distintos tipos de células madre mesenquimales según su origen, así como en los resultados obtenidos con las mismas en ensayos precínicos y clínicos, tanto en modelos animales como en humanos.

### Resultados:

Los estudios revisados muestran buenos resultados, sobre todo a medio y largo plazo, respecto al tratamiento convencional. Sin embargo existe todavía mucha variabilidad en cuanto a diversos aspectos técnicos de su utilización, como por ejemplo los medios de cultivo, la matriz para su implantación o la concentración de células necesaria para que sea eficiente. Una vez estudiados y pulidos estos aspectos clínicos se obtendrán mejores resultados. Además observamos que la principal aplicación de las células madre mesenquimales se realiza sobre los problemas degenerativos de rodilla. Sin embargo existen estudios para otro tipo de patologías, como fracturas o artritis reumatoide, que muestran resultados asimismo positivos.

### Conclusiones:

La terapia con células madre se presenta como una gran alternativa de futuro en el tratamiento de patologías osteoarticulares, con buenos aunque incipientes resultados clínicos. Aunque es necesario seguir con la investigación y depurar aspectos técnicos de su aplicación como puede ser la matriz o base con la que se insertan o las técnicas de cultivo. Asimismo y aunque no se hayan observado indicios de que el tratamiento pueda ser inseguro, la seguridad es un concepto que debe seguir siendo estudiado, sobre todo a largo plazo.

## **Structured summary:**

### Introduction:

The joint diseases have high prevalence in the adults, causing pain and progressive mobility limitation. The treatments available are simply palliative but never stop the progression of the disease. This is due to the limited capacity of regeneration of the tissues forming the joint (cartilage and bone). Some cases make it necessary to resort to replacement surgery to improve mobility of the person. However, joint replacement is highly invasive, expensive and not definitive, with a half life of 10-15 years. Recently regenerative therapy with adult mesenchymal stem cells is emerging as the treatment of the future.

### Methodology:

The aim of this final-year project is the bibliographic review about the current state of the research on grown-up Mesenchymal Stem Cells for the treatment of joint pathologies.

For this purpose, scientific and revision articles from the main databases of health science, which have been published for the last ten years, have been consulted. The project has focused on both the different types of Mesenchymal Stem Cells according to their source, and also, the results obtained with them in preclinical and clinical trials, in both animal and human models.

### Results:

The reviewed studies show good results, especially in the medium long term compared to conventional treatment. But it still has a lot of variability in the technical side of their use, such as what is the best medium or matrix for implantation, the concentration of cells necessary for efficient or suitability to perform serial injections of stem cells. What once studied and polished will cause on better results yet. In addition to that

observed regarding its main application is performed on the degenerative knee problems, and yet there are studies for other conditions such as a fracture or rheumatoid arthritis over which also show positive results and that would require more studies.

Conclusion:

Cell therapy with mesenchymal stem cells presents itself as a therapeutic alternative for the future. The studies reviewed show good, although still incipient, clinical positive outcomes. Thus it will be necessary to continue investigating in this field, characterizing further some technical aspects, such as best matrixes to be used or cultivation techniques. Likewise, although it seems that the may be safe, security must be also further tested, especially in the long term.

## **Introducción:**

Las patologías articulares tienen una alta prevalencia en la población adulta, además son una causa importantísima de incapacidad, pues el daño articular suele ir acompañado de dolor y una progresiva pérdida de movilidad<sup>1</sup>. Además el cartílago articular, por su alta especialización y por ser avascular, presenta una baja capacidad de regeneración<sup>2, 3</sup>. Dentro de la patología articular podemos englobar numerosas patologías, cada una de ellas con una etiología y una sintomatología propias. Algunos ejemplos de patologías articulares muy comunes son la artrosis<sup>4</sup>, la artritis reumatoide<sup>5</sup> o la osteonecrosis de rodilla y cadera<sup>6</sup>.

Para el tratamiento de la patología articular, a día de hoy se suele optar por dos vías principales: el tratamiento conservador y el quirúrgico. El tratamiento conservador<sup>7</sup> está basado en terapia física, fisioterapia y medidas que palien de alguna manera el dolor como pueden ser las infiltraciones articulares<sup>8</sup>. Este tipo de tratamiento suele ser de primera elección, por su rapidez de instauración, su bajo coste y por apenas presentar complicaciones. La segunda vía de tratamiento abarca procesos quirúrgicos que van desde la artrodesis, la artroplastia<sup>9</sup> o la limpieza y reconstrucción de las mismas<sup>10</sup>. Es una vía más agresiva, que, aunque con más riesgo o complicaciones, presenta unos mejores resultados.

En los últimos tiempos se está empezando a considerar además la posibilidad de utilizar un tratamiento basado en células madre mesenquimales. Este tratamiento que se podría denominar regenerativo, por su capacidad de reparar tejido articular al producir cartílago hialino, funcional<sup>11, 12</sup> formado por colágeno de tipo II.

Las células progenitoras mesenquimales<sup>13</sup>, caracterizadas por Friedenstein durante los años setenta, son un grupo de células madre



adultas, que fueron aisladas en primer lugar de la médula ósea y descritas como células adherentes de morfología fibroblastoide y con capacidad de diferenciación hacia distintos tipos celulares de tipo mesodérmico como pueden ser osteoblastos, adipocitos o condrocitos. En la bibliografía pueden aparecer descritas como Células Adultas Progenitoras Multipotentes o MAPCs (Multi-potent Adult Progenitor cells).

Más recientemente, en el año 2006, la Sociedad Internacional de terapia Celular<sup>14</sup> propuso tres criterios para definir este tipo de células:

- A) Capacidad para ser adherentes en cultivo.
- B) Expresar los antígenos CD73, CD90 y CF105 en ausencia de antígenos hematopoyéticos como CD34, CD45.
- C) Capacidad de diferenciarse en condiciones estándar de cultivo en osteoblastos, condrocitos y adipocitos. Además las células madre mesenquimales deben tener capacidad de autorenovación, es decir, durante la división celular solamente una de las células hijas debe sufrir diferenciación celular.
- D) Capacidad clonogénica o de diferenciación hacia los tejidos de las diferentes capas embrionarias, como ectodermo y endodermo.

Para la obtención de células madre mesenquimales han podido ser aisladas<sup>15</sup> de multitud de tejidos como hueso trabecular, pulpa dental, sangre de cordón umbilical, músculo esquelético, etc.

Su implantación suele ir acompañada de una matriz o medio de inyección. Se pueden utilizar medios como el suero salino, derivados de colágeno, factores tróficos o incluso construcciones tridimensionales que complementen o potencien su acción<sup>16</sup>.

### **Formulación de la pregunta del estudio**

El tratamiento de problemas articulares con células madre se presenta como una alternativa a los tratamientos convencionales, por un enorme potencial terapéutico y que abre nuevas vías de tratamiento para esta prevalente patología. Con el objetivo de conocer y comprender el estado actual de las investigaciones y su potencial terapéutico realizamos una revisión bibliográfica sistemática sobre la utilización de distintos tipos de células madre mesenquimales para el tratamiento de patologías articulares tanto en humanos como en animales modelo.

Las preguntas del estudio han sido:

- 1- ¿Cuál es el estado actual y qué resultados se obtienen en los estudios preclínicos y clínicos que utilizan células madre mesenquimales para tratar patologías articulares en animales modelo?
- 2- ¿Cuál es el estado actual y qué resultados se obtienen en ensayos clínicos que utilizan células madre mesenquimales para el tratamiento de patologías articulares en humanos?

## **Objetivos**

Con el objetivo de responder a las preguntas planteadas del estudio, en la presente revisión se realizará una búsqueda bibliográfica exhaustiva y crítica en distintas bases de datos tanto anglosajonas como hispanas.

Los objetivos del trabajo, que se articulan como respuesta a las preguntas anteriormente planteadas, son los que se citan a continuación:

- 1- Evaluar de forma crítica los resultados de las investigaciones preclínicas y clínicas que utilizan células madre mesenquimales para el tratamiento de patologías articulares en animales utilizados como modelo experimental en el laboratorio
- 2- Extraer las posibles implicaciones de los resultados obtenidos en animales modelos para el desarrollo de tratamientos efectivos de patologías articulares con células madre mesenquimales en humanos
- 3- Evaluar de forma crítica los resultados de los ensayos clínicos que utilizan células madre mesenquimales para el tratamiento de patologías articulares en humanos.
- 4- Valorar el potencial terapéutico de las células madre mesenquimales para el tratamiento de patologías articulares, identificando las metodologías más efectivas de administración.

## **Material y métodos**

Para esta revisión bibliográfica se realizó una búsqueda en distintas bases de datos disponibles en Internet. A continuación se describen las palabras clave utilizadas así como los criterios de inclusión y exclusión aplicados y las bases de datos consultadas.

### **Palabras clave**

En la búsqueda bibliográfica realizada en las bases de datos anglosajonas se utilizaron las siguientes palabras clave *mesenchymal stem cell, cartilage, clinical trials, chondrogenesis, in vivo, animal, human, bone, joint, tendon*. Con los operadores booleanos *AND, OR, NOT*, en distintas combinaciones.

Es el caso de las búsquedas en las bases de datos no anglosajonas se utilizaron los siguientes términos: *células madre, mesenquimales, ensayos clínicos, condrogenesis, animales, humanos, hueso, articulación*.

### **Criterios de inclusión y exclusión:**

Tuvimos en cuenta los siguientes criterios de **inclusión**:

- Artículos publicados desde el año 2005 hasta el 2015 (ambos inclusive)
- Artículos en español o inglés.
- Estudios clínicos realizados “in vivo”, en animales modelo con utilización de células madre para el tratamiento de patologías articulares.
- Ensayos clínicos realizados en humanos con la utilización de células madre mesenquimales para el tratamiento de patologías articulares.

Los criterios de **exclusión** fueron los siguientes:

- Publicaciones anteriores al año 2005.
- Artículos en idioma diferente al español o al inglés.
- Estudios clínicos que utilizan células madre mesenquimales para el tratamiento de patologías distintas a las articulares.
- Publicaciones que hacían referencia a estudios clínicos en el resumen pero no en el texto principal.

### Bases de datos

Se consultaron los siguientes motores de búsqueda y bases de datos:

-*Pubmed*: motor de búsqueda en inglés que da acceso libre a la base de datos MEDLINE, la cual es producida por la “Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos”.

-*Scopus*: base de datos en inglés editada por “Elsevier”. Es accesible para sus suscriptores.

-*Biblioteca Cochrane Plus*: conjunto de bases de datos bibliográficas en castellano, con resúmenes y artículos a texto completo. Depende del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

-*Dialnet*: motor de búsqueda de acceso libre a una de las mayores bases de datos de artículos hispanos. Ha sido creada por la “Universidad de La Rioja” y proporciona acceso a documentos publicados tanto en España como Latinoamérica. No solamente contiene artículos de revistas científicas especializadas, sino que también tesis doctorales, monografías, etc.

También se consultaron las siguientes bases de datos de ensayos clínicos:

- *Registro Español de Estudios Clínicos (REec)*: base de datos dependiente del “Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad”. Proporciona información sobre investigaciones clínicas permitidas en España, y los estudios que se están realizando en relación a una enfermedad o a un medicamento
- *ClinicalTrials.gov*: Base de datos producida por la “US National Institutes of Health” y que proporciona información sobre estudios clínicos de una gran variedad de enfermedades.

Dichas bases de datos consultadas mostraron los siguientes resultados:

<i>Tabla 1: Resultados y artículos seleccionados por base de datos</i>		
	Resultados	Artículos seleccionados
Pubmed	10322	12
Scopus	268	7
Dialnet	66	0
Cochrane	47	1

Respecto a las bases de datos de ensayos clínicos, encontramos el siguiente número de investigaciones relacionadas con el tema de la revisión: cuatro en el *Registro Español de Estudios Clínicos* y cuarenta y ocho en *Clinicaltrials.gov*. Sin embargo no se pudieron incluir en la revisión, bien por que todavía estaban concluídos, bien por incapacidad de acceso a sus resultados.

Tabla II: Resultados en bases de datos de ensayos clínicos		
	Número de estudios relacionados con el tema de la revisión	Estudios nuevos, no presentes en otras bases de datos.
Registro español de estudios clínicos	4	4
ClinicalTrials.gov	48	47

Así en **Pubmed** encontramos los siguientes artículos, ordenados por año:

- Aoyama T, Goto K, Kakinoki R, Ikeguchi R, Ueda M, Kasai Y, Maekawa T, Tada H, Teramukai S, Nakamura T, Toguchida J. *An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts. Tissue Eng Part B Rev. 2014;20(4):233-242.*

- Ishihara K, Nakayama K, Akieda S, Matsuda S, Iwamoto Y. *Simultaneous regeneration of full-thickness cartilage and subchondral bone defects in vivo using a three-dimensional scaffold-free autologous construct derived from high-density bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Journal of Orthopaedic Surgery and Research. 2014;9:98.*

- Kehoe O, Cartwright A, Askari A, El Haj AJ, Middleton J. *Intra-articular injection of mesenchymal stem cells leads to reduced inflammation and cartilage damage in murine antigen-induced arthritis. Journal of Translational Medicine. 2014;12:157.*

- Pilichi S, Rocca S, Pool RR, et al. *Treatment with embryonic stem-like cells into osteochondral defects in sheep femoral condyles. BMC Veterinary Research. 2014;10:301.*

- Diekman BO, Wu CL, Louer CR, et al. Intra-articular delivery of purified mesenchymal stem cells from C57BL/6 or MRL/MpJ superhealer mice prevents post-traumatic arthritis. *Cell transplantation*. 2013;22(8):1395-1408.
  
- Nicpoń J, Marycz K, Grzesiak J. Therapeutic effect of adipose-derived mesenchymal stem cell injection in horses suffering from bone spavin. *Pol J Vet Sci*. 2013;16(4):753-754.
  
- Horie M, Choi H, Lee RH, et al. Intra-articular Injection of Human Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Promote Rat Meniscal Regeneration by Being Activated to Express Indian Hedgehog that Enhances Expression of Type II Collagen. *OARS*. 2012;20(10):1197-1207.
  
- Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, Shahram F, Nikbin B. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. *Int J Rheum Dis*. 2011;14(2):211-215.
  
- Haleem AM, Singergy AA, Sabry D. The Clinical Use of Human Culture-Expanded Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplanted on Platelet-Rich Fibrin Glue in the Treatment of Articular Cartilage Defects: A Pilot Study and Preliminary Results. *Cartilage*. 2010;1(4):253-261.
  
- Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M, Karli D. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. *Pain Physician*. 2008;11(3):343-353.
  
- Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, Gingerich DA, Harman R. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. *Vet Ther*. 2007;8(4):272-284.



- Yamazoe K, Mishima H, Torigoe K, Iijima H, Watanabe K, Sakai H, Kudo T. *Effects of atelocollagen gel containing bone marrow-derived stromal cells on repair of osteochondral defect in a dog. J Vet Med Sci.* 2007;69(8):835-839.

En la base de datos **Scopus** los siguientes (ordenadas por año de publicación):

- Ferris DJ, Frisbie DD, Kisiday JD, McIlwraith CW, Hague BA, Major MD, Goodrich LR. *Clinical outcome after intra-articular administration of bone marrow derived mesenchymal stem cells in 33 horses with stifle injury. Veterinary Surgery.* 2014;43(3):255-265.

- Jo CH, Lee YG, Shin WH, Kim H, Chai JW, Jeong E C, Yoon KS. *Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: A proof-of-concept clinical trial. Stem Cells.* 2014;32(5):1254-1266.

- Koh Y, Kwon O, Kim Y, Choi Y. *Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment: A prospective study. Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery.* 2014;30(11):1453-1460.

- Lee KB, Hui JH, Im CS, Ardany L, Eng HL. *Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects - A porcine model. Stem Cells.* 2007;25(11):2964-2971.

- Wong KL, Lee KB, Tai BC, Law P, Lee EH, Hui JH. *Injectable cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in varus knees with cartilage defects undergoing high tibial osteotomy: A prospective, randomized controlled clinical trial with 2 years' follow-up. Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery.* 2013;29(12):2020-2028.

- Wakitani S, Okabe T, Horibe S, Mitsuoka T, Saito M, Koyama T, Ohgushi H. Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for cartilage repair in 41 patients with 45 joints followed for up to 11 years and 5 months. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2011;5(2):146-150.

- Zscharnack M, Hepp P, Richter R, Aigner T, Schulz R, Somerson J. Repair of chronic osteochondral defects using predifferentiated mesenchymal stem cells in an ovine model. *American Journal of Sports Medicine*. 2010;38(9):1857-1869.

Y por último en **Cochrane** encontramos el siguiente artículo:

- Ripoll PL, De Prado M, Yelo J. Osteonecrosis de la rodilla. Perusión células mesenquimales de cresta iliaca. *Trauma*. 2009;20(4).

## **Resultados**

Tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se estudiaron un total de 20 trabajos. Para analizar los resultados, los trabajos consultados fueron divididos en función de si se trataba de estudios con animales modelo o estudios clínicos en humanos.

Los estudios con células madre mesenquimales que se han analizado en esta revisión bibliográfica muestran una gran variabilidad en los procedimientos utilizados para el cultivo y administración de las células, así como en lo que se refiere al planteamiento general del estudio (tiempos de evaluación, patología a estudiar, etc.).

En lo que se refiere a los animales utilizados, observamos como modelo animal al ratón en tres ocasiones<sup>19, 21, 23</sup>, al cerdo<sup>33</sup>, el conejo<sup>18</sup>, la oveja<sup>20,36</sup>, al perro<sup>27, 28</sup> y al caballo<sup>22, 30</sup>.

En varios<sup>18, 21, 23, 28, 33, 36</sup> de los trabajos realizados en animales se provocó un daño con el fin de simular una patología. Se utilizaron diversas técnicas, como menistectomía<sup>23</sup> o incisión con un taladro quirúrgico<sup>18</sup> para generar defectos osteocondrales. También se simuló un cuadro de artritis reumatoide<sup>5</sup>.

En el caso de los dos estudios con caballos se trató un proceso patológico de hueso de spavin<sup>22</sup> y lesiones femorotibiales<sup>30</sup>. Y en otro estudio con perros realizados fueron tratados de patología osteoartítica de la articulación coxo-femoral<sup>10</sup>

Los estudios clínicos con humanos fueron realizados sobre osteoartritis<sup>13, 14, 15, 19, 20</sup> en la rodilla como opción más prevalente. En dos ocasiones<sup>14, 15</sup> se evaluó el tratamiento con células madre mesenquimales en el tratamiento de osteoartritis unicompartimental de rodilla junto con osteotomía tibial con cuña abierta para deformidad en varo.

Como fuente de las células madre mesenquimales se observó como opción más prevalente la médula ósea, normalmente extraídas de la cresta ilíaca<sup>17, 18, 19, 21, 23, 25, 28, 29 30, 33, 34, 35, 36</sup>. Aunque es necesario tener en cuenta que hay estudios que extrayéndolas de tejido adiposo<sup>22, 27, 31, 32</sup> y en un caso de células embrionarias animales<sup>20</sup> obtuvieron igualmente buenos resultados.

El método de cultivo de las células también varió considerablemente, destacando como opción más utilizada el medio de Eagle modificado Dulbecco con o sin suero fetal añadido<sup>26, 28, 30, 32, 33, 35</sup> y otras como condiciones hipóxicas<sup>21</sup> o seleccionando aquellas células que expresasen determinados genes<sup>19, 20, 31</sup>. En alguno de los estudios se realizó una selección de células para cultivar aquellas que presentasen determinados genes<sup>19, 20</sup>.

La inyección del tratamiento se realizó también siguiendo distintos procedimientos. En los estudios preclínicos con animales, tras realizar la incisión que simulaba la lesión se administraba las células madre cultivadas. Esta modalidad es propia de este tipo de estudios. En los ensayos clínicos con animales la opción más utilizada es la infiltración<sup>22, 27, 30</sup>, una técnica muy utilizada en la práctica clínica diaria. La segunda opción es una inyección guiada por artroscopia<sup>32</sup>. En los ensayos clínicos con animales y con humanos se utilizó principalmente la inyección directa en condiciones asépticas<sup>30</sup>. En un caso, esta técnica se realizó con la ayuda de un trócar para descomprimir la articulación y facilitar la inyección<sup>29</sup>.

Cabe destacar la gran variedad de matrices o soportes utilizadas en la implantación de las células madre. Encontramos desde el uso de suero fisiológico<sup>21</sup>, hasta diversos preparados comerciales, como el suero salino con fosfato<sup>24</sup>, atelocolágeno<sup>28</sup>, o el hilano que es un derivado del ácido hialurónico<sup>30</sup>.

En relación con el punto anterior, la concentración de células madre así mismo varió enormemente. Sólo en un estudio<sup>31</sup> se compararon la efectividad del tratamiento entre las distintas concentraciones utilizadas.

Los tiempos de estudio variaron enormemente, desde las 2 semanas<sup>23</sup> hasta los 11 años<sup>35</sup>. Este punto es especialmente importante, pues los efectos de la terapia con células madre mesenquimales se aprecian más claramente en el medio-largo plazo. Además en ninguno de los estudios revisados se observaron fenómenos que pudieran indicar inseguridad en el tratamiento. Únicamente un estudio<sup>22</sup> mostró efectos adversos relacionados con la técnica de inyección.

A continuación se expone un breve resumen para cada uno de los trabajos analizados (ver también tablas III-V). Además del resumen general, se incluye una primera frase que destaca, a nuestro juicio, aquellos resultados más relevantes de cada trabajo.

#### Resúmenes de los trabajos analizados:

##### a- Estudios clínicos con animales

- *Horie M, Choi H, Lee RH, et al. Intra-articular Injection of Human Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Promote Rat Meniscal Regeneration by Being Activated to Express Indian Hedgehog that Enhances Expression of Type II Collagen. OARS. 2012;20(10):1197-1207.*

*Se frenó la osteoartritis y se incrementó la producción de colágeno tipo II.*

Resumen general del trabajo: Primero se realizó una menistectomía parcial en un grupo de ratas, con el objetivo de generar un daño y simular

el proceso osteoartrósico. Tras ser cultivadas, se inyectaron células madre mesenquimales extraídas de médula ósea humanas en la rodilla derecha y células madre de rata en la izquierda. Se evaluó la evolución histológica y macroscópica a las 2, 4 y 8 semanas. Los resultados fueron positivos, pues lograron detener el avance de la osteoartritis además de incrementar la producción de colágeno tipo II. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la capacidad de regeneración de los implantes con células humanas respecto a los de rata.

- *Diekman BO, Wu CL, Louer CR, et al. Intra-articular delivery of purified mesenchymal stem cells from C57BL/6 or MRL/MpJ superhealer mice prevents post-traumatic arthritis. Cell transplantation. 2013;22(8):1395-1408.*

*El tratamiento con células madre frena la aparición de osteoartritis secundaria a traumatismo, pero no la inflamación*

Resumen general del estudio: El estudio trata de demostrar la eficacia de las células madre mesenquimales en la prevención de la osteoartritis secundaria a traumatismo. En él, se generó una fractura intraarticular sobre un grupo de ratones para simular una osteoartritis. Posteriormente se inyectaron células madre derivadas de médula ósea de ratón caracterizadas por el marcador MRL “superhealer” y otro grupo caracterizado por el marcador B6. Tras 8 semanas se evaluó el volumen y la densidad ósea. Se comprobó que la inyección con células madre mesenquimales previene la aparición de artitis post-traumática, aunque no surtió efecto sobre la inflamación.

- *Ishihara K, Nakayama K, Akieda S, Matsuda S, Iwamoto Y.2014. Simultaneous regeneration of full-thickness cartilage and subchondral bone defects in vivo using a three-dimensional scaffold-free autologous*

*construct derived from high-density bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Journal of Orthopaedic Surgery and Research; 9:98.*

*Se comprobó la regeneración simultánea de cartílago y hueso.*

Resumen general del estudio: Sobre un grupo de 15 conejos, se simuló mediante cirugía un daño osteocondral en la rodilla, con unas características y dimensiones determinadas. Tras ello se realizó un implante de células madre mesenquimales derivadas de su médula ósea. El implante fue preparado mediante una técnica *scaffold-free* configurado en unas estructuras cilíndricas que se encajaron específicamente sobre la lesión. Después de un año se comprobó una reparación simultánea de hueso y cartílago en las rodillas tratadas respecto al grupo control.

*- Pilichi S, Rocca S, Pool RR, et al. Treatment with embryonic stem-like cells into osteochondral defects in sheep femoral condyles. BMC Veterinary Research. 2014;10:301.*

*Se observó una mayor regeneración en el cartílago hialino respecto al grupo control. No se apreció rechazo inmunológico ni teratoma tras 24 meses.*

Resumen general del estudio: Este estudio experimental trata de evaluar el efecto de la inserción de células madre mesenquimales embrionarias en defectos osteocondrales en los cóndilos femorales de ovejas adultas. Estas células fueron seleccionadas en función de si expresaban determinados genes y cultivadas en laboratorio. Para realizar el estudio se dividió a un grupo de 22 ovejas en 5 grupos, correspondientes a los meses tras los que se realizó evaluación tras la cirugía (1, 2, 6, 12, y 24). El tejido formado fue evaluado de manera macroscópica, histológica, inmunológica y química. El estudio demostró una mayor regeneración en el cartílago hialino en 17 ovejas con

respecto al grupo control, sin apreciarse rechazo inmunológico ni teratoma tras 24 meses.

- Kehoe O, Cartwright A, Askari A, El Haj AJ, Middleton J. *Intra-articular injection of mesenchymal stem cells leads to reduced inflammation and cartilage damage in murine antigen-induced arthritis. Journal of Translational Medicine. 2014;12:157.*

*En rodillas tratadas con células madre derivadas de médula ósea, se observó una reducción significativa tanto de la inflamación como de la destrucción del cartílago respecto al grupo control.*

Resumen general del estudio: Se indujo artritis reumatoide en las rodillas a un grupo de ratones. Tras esto fue tratada la rodilla derecha con células madre derivadas de la médula ósea, mientras que la izquierda fue dejada como control. Las células fueron seleccionadas para que fueran capaces de diferenciarse a las células deseadas y por motivos de inmunofenotipo. Para la evaluación de los resultados se tuvieron en cuenta parámetros histológicos, macroscópicos y clínicos (inflamación). Así se pudo observar que a las 24 horas y a los 7 días de la administración, las rodillas tratadas presentaban una menor inflamación que las no tratadas. Además los resultados histológicos mostraron que las rodillas tratadas presentaban una menor destrucción de cartílago.

- Zscharnack M, Hepp P, Richter R, Aigner T, Schulz R, Somerson J. *Repair of chronic osteochondral defects using predifferentiated mesenchymal stem cells in an ovine model. American Journal of Sports Medicine. 2010;38(9):1857-1869.*



*Los modelos tratados con gel y células mesenquimales prediferenciadas mostraron de manera general mejores resultados que el resto de tratamientos.*

Resumen general del estudio: Este estudio trata de evaluar los efectos de las células madre mesenquimales, previamente diferenciadas, en el tratamiento de problemas osteocondrales crónicos en modelos ovinos. Para ello, se generaron mediante cirugía lesiones osteocondrales de 7 mm en los cóndilos femorales de las patas traseras de 10 ovejas merinas, dando como resultado 40 lesiones. Éstas se dividieron en 4 grupos de tratamiento: i) Un hidrogel con células mesenquimales ovinas previamente diferenciados en condrocitos, ii) El mismo gel pero con células mesenquimales sin diferenciar, iii) El gel solo y iv) El grupo de control, sin tratar. Tras 6 meses de estudio, se concluyó que los modelos tratados con gel y células mesenquimales prediferenciadas mostraron mucho mejores resultados histológicos, además de mayor presencia de cartílago y mejores características morfológicas que el resto de tratamientos.

*- Lee KB, Hui JH, Im CS, Ardany L, Eng HL. Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects - A porcine model. Stem Cells. 2007;25(11):2964-2971.*

*Los resultados mostraron una mejora a nivel histológica y morfológica respecto al grupo control.*

Resumen general del estudio: Este estudio trata sobre la efectividad del tratamiento con células madre mesenquimales para el tratamiento de defectos en el cartílago articular. Para ello se realizó una pequeña incisión sobre el cartílago sin llegar a penetrar hasta el hueso subcondral de un grupo de 27 cerdos. Luego se inyectaron células madre mesenquimales extraídas de la cresta ilíaca del mismo cerdo,

junto con hilano G-F 20, dejando un grupo de control al que únicamente se le inyectó suero salino. Los resultados mostraron una mejora a nivel histológica y morfológica a las 6 y 12 semanas respecto al grupo control.

- Yamazoe K, Mishima H, Torigoe K, Iijima H, Watanabe K, Sakai H, Kudo T. *Effects of atelocollagen gel containing bone marrow-derived stromal cells on repair of osteochondral defect in a dog. J Vet Med Sci.* 2007;69(8):835-839.

*Mejoría clínica en el grupo de tratamiento respecto al grupo control, sobre todo a largo plazo. Migración de las células a la zona profunda de la lesión.*

Resumen general del estudio: Se evalúa la efectividad del tratamiento con células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea junto con un gel de atelocolágeno en defectos osteocondrales en el perro, utilizando 9 individuos. Las células fueron extraídas de la médula ósea en la cresta ilíaca y cultivadas junto con un preparado comercial de suero fetal bovino. Además se las sometió a un proceso para que adquiriesen propiedades fluorescentes. Para su inyección se mezclaron con una solución de atelocolágeno en el grupo de tratamiento. En el grupo control sólo se utilizó dicha solución. El estudio se realizó durante 10 semanas. Los resultados mostraron una mejoría clínica en el grupo de tratamiento con respecto al grupo control, sobre todo a largo plazo. Además mediante el marcaje fluorescente de las células madre, se pudo observar la migración de las células a la zona más profunda de la lesión.

- Ferris DJ, Frisbie DD, Kisiday JD, Mcilwraith CW, Hague BA, Major MD, Goodrich LR. *Clinical outcome after intra-articular administration of bone marrow derived mesenchymal stem cells in 33 horses with stifle injury. Veterinary Surgery. 2014;43(3):255-265.*

*En los casos de los caballos con daño en menisco se apreció una mejora significativa respecto al grupo control.*

Resumen general del artículo: El objetivo del estudio es evaluar la eficacia del tratamiento de lesiones femorotibiales (de menisco, cartílago o ligamento) con un implante de células madre mesenquimales autólogas de la médula ósea en 33 caballos. El detalle de los casos y su seguimiento se realizó en función de registros médicos, los dueños, el entrenador o el veterinario. Los resultados se definieron en función del nivel de regreso al trabajo previo. Así el 43% regresó al trabajo, el 24% fracasó. En los casos de los caballos con daño en menisco se apreció una mejora significativa respecto al grupo control. Se apreció inflamación post-inyección en el 9% de los casos. En definitiva concluye que el tratamiento resultó seguro y con mejores resultados que solamente con cirugía.

- Nicpoń J, Marycz K, Grzesiak J. *Therapeutic effect of adipose-derived mesenchymal stem cell injection in horses suffering from bone spavin. Pol J Vet Sci. 2013;16(4):753-754.*

*Ventaja a largo plazo de la terapia con células madre respecto a la terapia conservadora clásica con esteroides.*

Resumen general del artículo: Este artículo trata de demostrar la eficiencia del trasplante autólogo de células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo para el tratamiento del hueso de spavin en caballos, que es una exóstosis en la porción medial e inferior del

corvejón. Para ello se dividió a los 16 caballos en tres grupos. El primero fue tratado con células madre, el segundo con inyección de corticoides y el tercero como grupo control. Se evaluaron los resultados a los 30, 60, 90 y 180 y mostraron la ventaja, sobre todo a largo plazo, de la terapia con células madre respecto a la terapia conservadora clásica con esteroides.

*- Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, Gingerich DA Harman R. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. Vet Ther. 2007;8(4):272-284.*

*Mayor efectividad y mejores resultados clínicos en el grupo tratado con células madre respecto al grupo control.*

Resumen general del artículo: Este estudio tiene como objetivo valorar los efectos de la terapia con células madre mesenquimales autólogas derivadas del tejido adiposo en perros con patología osteoartítica crónica de cadera. Se realizó sobre 21 perros con osteoartritis bilateral coxo-femoral crónica, de manera aleatorizada, controlada, con doble ciego y en distintos centros. Cada perro recibió una inyección en la zona a tratar, únicamente con fosfato salino o por el contrario con fosfato salino y además una suspensión de células madre. Los animales fueron evaluados de manera clínica a lo largo de diversas consultas comprendidas entre los 2 y los 90 días, mostrando mejores resultados en la clínica de los animales tratados con células madre respecto a los del grupo control.

**Tabla III- Resumen sintetizado de los aspectos más relevantes de los ensayos clínicos con animales.**

Referencia	Modelo Animal	Tipo de estudio y nivel de evidencia <sup>38</sup>	Tipo de patología	Implante( Tipo de célula madre, matriz y/o factor trófico)	Método de extracción y cultivo	Evaluación	Intervalos de evolución y tiempo de estudio	Resultados	Observaciones
<i>Horie M, Choi H, Lee RH, et al. Intra-articular Injection of Human Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Promote Rat Meniscal Regeneration by Being Activated to Express Indian Hedgehog that Enhances Expression of Type II Collagen. OARS. 2012;20(10):1197-1207.</i>	Rata	Estudio de casos controlado. II-2.	Se simuló un daño en el cartílago de la rodilla mediante una extirpación parcial del menisco.	Células madre mesenquimales de médula ósea humanas (rodilla derecha) y de rata (rodilla izquierda).	Extraídas de médula ósea y cultivadas en solución salina con fosfato.	Histológica y macroscópica.	Evaluados a las 2, 4 y 8 semanas	Los resultados fueron positivos, pues se frenó la osteoartritis y se incrementó la producción de colágeno	
<i>Diekman BO, Wu CL, Louer CR, et al. Intra-articular delivery of purified mesenchymal stem cells from C57BL/6 or MRL/MpJ superhealer mice prevents post-traumatic arthritis. Cell transplantation. 2013;22(8):1395-1408.</i>	Rata	Estudio de casos controlado. II-2	Osteoartritis secundaria a traumatismo intraarticular producida en laboratorio	Células madre mesenquimales de médula ósea, junto con suero fisiológico.	Extraídas de médula ósea de ratones. Cultivadas en ambiente hipóxico.	Histológica y macroscópica	A las 8 semanas	El tratamiento con células madre frena la aparición de osteoartritis secundaria a traumatismo	La inyección de células madre no frenó la inflamación
<i>Ishihara K, Nakayama K, Akieda S, Matsuda S, Iwamoto Y. Simultaneous regeneration of full-thickness cartilage and subchondral bone defects in vivo using a three-dimensional scaffold-free... derived mesenchymal stem cells. Journal of Orthopaedic Surgery and Research. 2014;9:98.</i>	Conejo	Estudio de casos controlado con un grupo de 15 conejos. II-2.	Defectos osteocondrales en la rodilla, generado mediante cirugía.	Células madre mesenquimales implantadas con unas construcciones cilíndricas.	Extraídas de médula ósea. Cultivadas de manera scaffold-free	Histológica y macroscópica	A las 24 y 52 semanas.	Se comprobó la regeneración simultánea de cartílago y hueso.	

<i>Pilichi S, Rocca S, Pool RR, et al. Treatment with embryonic stem-like cells into osteochondral defects in sheep femoral condyles. BMC Veterinary Research. 2014;10:301.</i>	Ovejas	Se utilizó un grupo de 22 ovejas en 5 grupos, II-2.	Defectos osteocondrales en los cóndilos femorales	Células madre mesenquimales embrionarias animales.	Embrionarias Se seleccionaron aquellas que expresaban determinados genes.	Histológico, macroscópico, inmunológico y química	24 meses	Tras su evaluación se demostró una mayor regeneración en el cartilago hialino respecto al grupo control. Sin apreciarse rechazo inmunológico ni teratoma
<i>Kehoe O, Cartwright A, Askari A, El Haj AJ, Middleton J. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells leads to reduced inflammation and cartilage damage in murine antigen-induced arthritis. Journal of Translational Medicine. 2014;12:157.</i>	Rata	Se indujo artritis reumatoide a un grupo de ratones. En los que se trató la rodilla derecha y se dejó la izquierda como control. II-2.	Se indujo artritis reumatoide a un grupo de ratones.	Células madre mesenquimales autólogas.	Médula ósea. Se seleccionaron aquellas capaces de diferenciarse a las células deseadas y por motivos de inmunofenotipo	Clínica, histológica y macroscópica	A las 24 h y 7 días	En las rodillas tratadas con células madre, se observó una inflamación y destrucción del cartilago significativamente menor que en el grupo control.
<i>Zscharnack M, Hepp P, Richter R, Aigner T, Schulz R, Somerson J. Repair of chronic osteochondral defects using predifferentiated mesenchymal stem cells in an ovine model. American Journal of Sports Medicine. 2010;38(9):1857-1869.</i>	Ovejas	II-2.	Problemas osteocondrales crónicos en los cóndilos femorales provocadas mediante cirugía.	Células mesenquimales ovinas autólogas. Junto con hidrogel de colágeno.	Extraídas de la médula ósea. Se utilizaron células previamente diferenciadas y sin diferenciar.	Histológica, macroscópica.	6 meses	Los modelos tratados con gel y células mesenquimales prediferenciadas mostraron mejores resultados en general.

<p>Lee KB, Hui JH, Im CS, Ardany L, Eng HL. <i>Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects - A porcine model. Stem Cells. 2007;25(11):2964-2971.</i></p>	Cerdos	Estudio de casos controlado. II-2.	Defectos en cartilago articular provocados mediante cirugía	Células madre mesenquimales autólogas junto con un derivado del ácido hialurónico (Hilano G-F 20)	Extraídas de la cresta ilíaca. Cultivado en medio de Eagle modificado Dulbecco con suero fetal bovino	Histológica, macroscópica	6 y 12 semanas.	Los resultados mostraron una mejora a nivel histológica y morfológica respecto al grupo control.	
<p>Yamazoe K, Mishima H, Torigoe K, Iijima H, Watanabe K, Sakai H, Kudo T. <i>Effects of atelocollagen gel containing bone marrow-derived stromal cells on repair of osteochondral defect in a dog. J Vet Med Sci. 2007;69(8):835-839.</i></p>	Perros	Estudio de casos. II-2.	Defectos osteocondrales	Células madre mesenquimales autólogas, junto con atelocolágeno.	Extraídas de médula ósea, cultivada en medio de Eagle modificado Dulbecco con suero fetal bovino.	Clínica, radiológico (fluorescencia), histológica	10 semanas	Mejoría clínica en el grupo de tratamiento respecto al grupo control, sobre todo a largo plazo. Migración de las células a la zona profunda de la lesión.	
<p>Ferris DJ, Frisbie DD, Kisiday JD, McIlwraith CW, Hague BA, Major MD, Goodrich LR. <i>Clinical outcome after intra-articular administration of bone marrow derived mesenchymal stem cells in 33 horses with stifle injury. Veterinary Surgery. 2014;43(3):255-265.</i></p>	Caballos	Estudio de casos prospectivo, con 33 caballos. II-1.	Lesiones femorotibiales (de menisco, cartilago o ligamento)	Células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea	Extraídas de médula ósea y cultivados en medio de Eagle modificado Dulbecco y suero fetal bovino	En función de la vuelta al trabajo y su rendimiento	24 meses	Positivos. Así el 43% regresó al trabajo, el 24% fracasó. En los casos de los caballos con daño en menisco se apreció una mejora significativa respecto al grupo control	

<i>Nicpoń J, Marycz K, Grzesiak J. Therapeutic effect of adipose-derived mesenchymal stem cell injection in horses suffering from bone spavin. Pol J Vet Sci. 2013;16(4):753-754.</i>	Caballos	Estudio de casos controlado. II-1.	Hueso de Spavin	Células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo junto con suero fisiológico	Extraída de tejido adiposo y cultivadas in vitro	Clínica, radiológica	A los 60, 90 y 180 días	Positivos. Ventaja, a largo plazo de la terapia con células madre respecto a la terapia conservadora clásica con esteroides.	
<i>Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, Gingerich DA, Harman R. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. Vet Ther. 2007;8(4):272-284.</i>	Perros	Estudio de casos, controlado I	Osteoartritis crónica de la articulación coxo-femoral.	Células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo junto con solución salina con fosfato	Extraída de tejido adiposo in vitro con solución salina con fosfato	Clínica	90 días	Mejores resultados clínicos en el grupo tratado con células respecto al grupo control.	



b- Estudios clínicos realizados en humanos

- Haleem AM, Singergy AA, Sabry D. *The Clinical Use of Human Culture—Expanded Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplanted on Platelet-Rich Fibrin Glue in the Treatment of Articular Cartilage Defects: A Pilot Study and Preliminary Results. Cartilage. 2010;1(4):253-261.*

*Efectividad del tratamiento para promover la regeneración del cartílago articular.*

Resumen general del artículo: Estudio de casos en los que se realizó un implante con células madre extraídas de la propia médula ósea del paciente. Las células fueron inyectadas junto con una matriz bioabsorbible, estéril y no inmunógena de cola de fibrina rica en plaquetas y con con una matriz de cola de fibrina rica en plaquetas. El estudio se realizó en 5 pacientes con defectos del cartílago en el cóndilo femoral. Los resultados se evaluaron con radiología y resonancia magnética a los 6 y 12 meses. Mostrando que este tratamiento es una manera efectiva de promover la regeneración del cartílago articular, de manera objetiva con distintas escalas para la evaluación en la cirugía de rodilla. La sintomatología mejoró en todos los casos. Además en 3 de ellos se observó una reparación completa, con congruencia articular y presencia de cartílago. En los otros dos no se pudo observar congruencia articular.

- Jo CH, Lee YG, Shin WH, Kim H, Chai JW, Jeong E C, Yoon KS. *Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: A proof-of-concept clinical trial. Stem Cells. 2014;32(5):1254-1266.*

*Incremento del volumen del cartílago, mejora de la funcionalidad y la sintomatología dolorosa, así como la seguridad del estudio.*

Resumen general del estudio: El propósito de este estudio es evaluar la seguridad y eficacia de la inyección intra-articular de células madre mesenquimales autólogas derivadas de tejido adiposo en el tratamiento de la osteoartritis de rodilla. Para eso se escogieron a 18 pacientes a los que, previo consentimiento, se sometió a esta terapia. La primera fase del estudio consistió en la división en tres cohortes (tres pacientes cada una) según dosis baja, media o alta de células madre. En la segunda fase los otros 9 pacientes recibieron la dosis alta. Los resultados a los 6 meses fueron seguros, pues no mostraron ningún efecto adverso relacionado con el tratamiento. Además se evaluó el grado de osteoartritis según la escala WOMAC y mostró una mejoría en volumen de cartílago, en los cóndilos mediales tibial y femoral. Además se pudo apreciar una disminución de la lesión, mejorando la funcionalidad de la articulación y la sintomatología dolorosa

*- Koh Y, Kwon O, Kim Y, Choi Y. Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment: A prospective study. Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery. 2014;30(11):1453-1460.*

*La terapia de células madre junto con el plasma mejoró la regeneración del cartílago y ofreció mejores resultados clínicos.*

Resumen general del estudio: Este estudio compara los resultados clínicos y los hallazgos por artroscopia de pacientes sometidos a osteotomía tibial con cuña abierta para deformidad en varo, con y sin terapia mediante células mesenquimales. Para ello se dividió a los pacientes en dos grupos: al primero sólo se le administró plasma rico en plaquetas y al segundo se le administró también células madre mesenquimales autólogas derivadas de tejido adiposo. Los resultados, tras 25 meses de estudio, mostraron que la terapia de células madre junto con el plasma mejoró la curación del cartílago y dió mejores resultados clínicos.

- Wong KL, Lee KB, Tai BC, Law P, Lee EH, Hui JH. *Injectable cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in varus knees with cartilage defects undergoing high tibial osteotomy: A prospective, randomized controlled clinical trial with 2 years' follow-up. Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery. 2013;29(12):2020-2028.*

*Mayor efectividad de la inyección articular con células mesenquimales derivadas de la médula ósea.*

Resumen general del estudio: Este estudio trata de analizar los resultados del uso intra-articular autólogo de células madre mesenquimales derivadas de médula ósea en conjunción con microfractura y osteotomía tibial medial de cuña abierta. Para ello se escogieron 56 pacientes con patología osteoartítica unicompartimental y *genu varo*, que fueron divididos aleatoriamente en un grupo control y otro de tratamiento con células madre. Todos los pacientes fueron tratados con micro osteotomía y microfractura. El grupo a tratamiento celular fue inyectado con células madre mesenquimales con ácido hialurónico durante 3 semanas tras la cirugía, mientras que el grupo control sólo fue tratado con ácido hialurónico. Los resultados fueron evaluados a los 6, 12 y 24 meses. Se observaron mejores resultados clínicos en el grupo tratado con inyección articular con células mesenquimales respecto al grupo tratado solamente con ácido hialurónico, tanto en la estudio general a corto plazo con en los resultados objetivados mediante escalas de valoración.

- Wakitani S, Okabe T, Horibe S, Mitsuoka T, Saito M, Koyama T, Ohgushi H. *Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for cartilage repair in 41 patients with 45 joints followed for up to 11 years and 5 months. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 2011;5(2):146-150.*

*Los resultados demostraron la seguridad de este tratamiento pues ninguno de ellos sufrió infecciones o tumores causados por el tratamiento de la patología articular.*

Resumen general del estudio: Este estudio trata sobre la seguridad en el tratamiento reparador de cartílago con células madre mesenquimales autólogas derivadas de la médula ósea. Para ello se realizó un seguimiento a 41 pacientes, que recibieron 45 trasplantes en total, durante 11 años y 5 meses. A diez de ellos no se les pudo tener en cuenta en el estudio por diversos motivos. Los resultados demostraron la seguridad de este tratamiento pues ninguno de ellos sufrió infecciones o tumores causados por el tratamiento.

*- Ripoll PL, De Prado M, Yelo J. Osteonecrosis de la rodilla. Perfusión células mesenquimales de cresta iliaca. Trauma. 2009;20(4).*

*Destacada mejoría en la sintomatología clínica. Mejora en la funcionalidad articular.*

Resumen general del estudio: El objetivo de este estudio es observar la evolución de las lesiones osteocondrales de la rodilla con infiltración quirúrgica de células madre. Fue realizado sobre un grupo de 40 pacientes, 20 varones y 20 mujeres, diagnosticados con osteonecrosis atraumática de rodilla. La intervención consistió en la inyección de células mesenquimales derivadas de médula ósea extraída de la cresta iliaca y perfundidas en la zona necrótica. Los pacientes fueron evaluados entre un año y tres años después de la intervención mediante imagen radiográfica. Los resultados mostraron mejoría en la sintomatología clínica, alivio en el cuadro doloroso y mejora en la capacidad funcional de la articulación.

*- Aoyama T, Goto K, Kakinoki R, Ikeguchi R, Ueda M, Kasai Y, Maekawa T, Tada H, Teramukai S, Nakamura T, Toguchida J. An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent*

*mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts. Tissue Eng Part B Rev. 2014;20(4):233-242.*

*Mejora en el volumen óseo y en la sintomatología clínica tras el tratamiento con células madre.*

Resumen general del estudio: Este estudio trata de evaluar la eficacia en el tratamiento de la osteonecrosis ideopática de la cabeza del fémur y la seguridad de las células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea. Para ello se inyectaron dichas células, en combinación con injertos de hueso vascularizado en un grupo de 10 pacientes con esa patología en estadio 3. Los resultados fueron valorados a los 24 meses, mediante estudios radiológicos y sintomatología clínica. Los resultados fueron positivos y, aunque no se pueda demostrar todavía la eficacia del trasplante de células, todos los procedimientos resultaron satisfactorios. Algunos pacientes jóvenes con extensas zonas necróticas y dolor mostraron una buena regeneración articular y atenuación de los síntomas dolorosos.

*- Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, Shahram F, Nikbin B. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. Int J Rheum Dis. 2011;14(2):211-215.*

*Mejoría en la sintomatología y en los resultados de las pruebas radiológicas.*

Resumen general del estudio: El objetivo de este estudio es examinar la capacidad de las células madre mesenquimales para revertir la osteoartritis de rodilla. Para ello se seleccionaron 4 pacientes con osteoartritis de moderada a severa a los que se les inyectaron células madres autólogas derivadas de la médula ósea. Sobre estas células, durante su cultivo, se determinó la expresión de distintos genes. La evaluación de los resultados se llevó a cabo mediante seguimiento en consulta cada mes y pruebas

radiológicas a los 6 meses y al año. Los resultados fueron buenos, el dolor mejoró, la crepitación también y las pruebas radiológicas arrojaron buenos resultados. Sin embargo el artículo concluye que los resultados fueron buenos pero no excelentes y una mejora de la técnica repercutirá en una mejora de los resultados.

- Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M, Karli D. *Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. Pain Physician. 2008;11(3):343-353.*

*Mejora en la sintomatología y en el volumen óseo.*

Resumen general del artículo: El objetivo de este estudio es determinar si la inyección percutánea en rodilla de células madre mesenquimales autólogas, extraídas de la médula ósea, puede regenerar de manera efectiva el cartílago y el menisco. Tras su cultivo, las células fueron administradas junto a una solución salina con fosfato. Hasta las 24 semanas, se evaluó al paciente sujeto a estudio de forma radiológica y clínica, observándose un incremento en el volumen óseo, así como una mejora biomecánica y en la sintomatología dolorosa.

**Tabla IV-** Resumen de los aspectos más relevantes en los ensayos clínicos en humanos.

Referencia	Tipo de ensayo clínico y nivel de evidencia <sup>38</sup>	Tipo de patología	Implante( Tipo de célula madre, matriz y/o factor trófico)	Método de extracción y cultivo	Evaluación	Intervalos de evaluación y Tiempo del estudio	Resultados clínicos	Observaciones
Haleem AM, Singergy AA, Sabry D. The Clinical Use of Human Culture–Expanded Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplanted on Platelet-Rich Fibrin Glue in the Treatment of Articular Cartilage Defects: A Pilot Study and Preliminary Results. <i>Cartilage</i> . 2010;1(4):253-261.	Estudio de casos, con 5 pacientes. II-1.	Defectos del cartílago en el cóndilo femoral	Células madre mesenquimales autólogas de médula ósea. Junto con una matriz de cola de fibrina rica en plaquetas.	Extraída de médula ósea, cultivada en medio de Eagle con suero fetal bovino	Se evaluó mediante radiología y resonancia magnética	A los 6 y 12 meses	Mostrando que este tratamiento es una manera efectiva de promover la regeneración del cartílago.	
Jo CH, Lee YG, Shin WH, Kim H, Chai JW, Jeong E C, Yoon KS. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: A proof-of-concept clinical trial. <i>Stem Cells</i> . 2014;32(5):1254-1266.	Estudio de casos, con 18 pacientes. II-1	Osteoartritis de la rodilla.	Células madre mesenquimales autólogas, junto con plasma rico en plaquetas	Extraída de tejido adiposo, seleccionados para que expresaran determinados genes.	Macroscópica, histológica	6 meses	Positivos, incremento del volumen del cartílago, mejora de la funcionalidad y la sintomatología dolorosa, así como la seguridad del estudio.	
Koh Y, Kwon O, Kim Y, Choi Y. Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination . <i>Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery</i> . 2014;30(11):1453-1460.	Estudio de casos prospectivo, comparativo. II-1.	Osteoartritis unicompartamental de la rodilla tratada con de osteotomía tibial para deformidad en varo	Células madre mesenquimales autólogas junto con plasma rico en plaquetas	Extraída de tejido adiposo, cultivadas en medio de Eagle modificado con suero fetal bovino	Clínico, radiológico, quirúrgico (artroscopia)	24-25 meses	La terapia de células madre junto con el plasma dió mejores resultados .	

Wong KL, Lee KB, Tai BC, Law P, Lee EH, Hui JH. Injectable cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in varus knees with cartilage defects undergoing high tibial osteotomy: A prospective, randomized controlled clinical trial with 2 years' follow-up. Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery. 2013;29(12):2020-2028.	Estudio aleatorizado y controlado. I.	Osteoartritis unicompartamental de la rodilla tratada con de osteotomía tibial con cuña abierta para deformidad en varo	Células madre mesenquimales. Autólogas. Junto con suero autólogo.	Extraída de médula ósea, Cultivada en ácido ascórbico y medio de Eagle modificado Dulbecco con suero fetal bovino	Clínico, radiológico	6 meses, 1 año, 2 años.	Los resultados mostraron la mayor efectividad de la inyección articular con células mesenquimales	
Wakitani S, Okabe T, Horibe S, Mitsuoka T, Saito M, Koyama T, Ohgushi H. Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for cartilage repair in 41 patients with 45 joints followed for up to 11 years and 5 months. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 2011;5(2):146-150.	Estudio de casos, con 41 pacientes. II-1.	Seguridad del tratamiento en daños en cartílago articular	Células madre mesenquimales autóloga	Extraída de médula ósea cultivada en medio de Eagle modificado con suero fetal bovino	Clínica	11 años y 5 meses	Los resultados demostraron la seguridad de este tratamiento pues ninguno de ellos sufrió infecciones o tumores por esta causa.	
Ripoll PL, De Prado M, Yelo J. Osteonecrosis de la rodilla. Perfusión células mesenquimales de cresta iliaca. Trauma. 2009;20(4).	Estudio de casos, con 40 pacientes. II-1.	Lesiones osteocondrales de la rodilla	Células madre mesenquimales autólogas	Extraída de cresta iliaca cultivadas mediante sistema Harvest.	Clínica, radiológica.	Como mínimo a los 2 años	Mejoría en la sintomatología clínica. Alivio del cuadro doloroso. Mejora funcionalidad articulación.	
Aoyama T, Goto K, Kakinoki R, Ikeguchi R, Ueda M, Kasai Y, Maekawa T, Tada H, Teramukai S, Nakamura T, Toguchida J. An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts. Tissue Eng Part B Rev. 2014;20(4):233-242.	Ensayo clínico con 10 pacientes. II-1.	osteonecrosis ideopática de la cabeza del fémur	células madre mesenquimales mezclada con fosfato b-tricálcico en combinación con injertos de hueso vacularizado	Extraída de médula ósea, cultivadas en un medio de suero autólogo	Clínica, radiológica	24 meses	Positivos. Mejora en el volumen ósea y en la sintomatología clínica	



Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, Shahram F, Nikbin B. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. Int J Rheum Dis. 2011;14(2):211-215.	Ensayo clínico con 4 pacientes. II-1.	osteoartritis en la articulación de rodilla	Células madre mesenquimales autólogas	Extraída de médula ósea, modificadas durante el cultivo para expresar determinados genes.	Clínica y radiológica	Clínica cada mes, radiológica a los 6 meses y al año.	Buenos pero no excelentes. Mejora sintomatología y en pruebas radiológicas.	
Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M, Karli D. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. Pain Physician. 2008;11(3):343-353.	Estudio de un caso. II-2.	Osteoartritis en la articulación de la rodilla	Células madre mesenquimales autólogas junto con solución salina con fosfato	Extraída de médula ósea cultivadas en medio de Eagle modificado Dulbecco	Clínica y radiológica	24 semanas	Buenos resultados, con mejora en la sintomatología y en el volumen óseo.	Un solo paciente

## **Discusión**

La patología articular se presenta como un problema muy prevalente en nuestra sociedad. Hasta no hace mucho las alternativas eran el tratamiento conservador o el quirúrgico. Recientemente se ha empezado a tener en cuenta una alternativa más: la terapia regenerativa con células madre mesenquimales. Ésta se muestra como es un prometedor tratamiento, con unas grandes expectativas de poder mejorar la terapéutica hasta ahora aplicada en esta patología.

El análisis de los artículos estudiados muestra que la implantación de las células madre mesenquimales ofrece un procedimiento menos invasivo que la cirugía, con menos efectos secundarios y un tiempo de recuperación mucho menor. Sin embargo, existen efectos adversos como puede ser la dispersión de las células en la cavidad articular, aunque hay estudios que muestran como tienden a desplazarse a la zona lesionada<sup>28</sup>.

En el caso de algunos de los estudios experimentales con animales, mediante distintos procedimientos se simulaban las diferentes patologías articulares a estudiar. Esto crea las condiciones más parecidas posibles a la patología, pero no refleja con total exactitud las condiciones clínicas de un proceso crónico inflamatorio. Por el contrario, en los estudios clínicos con animales y con humanos sí se pudo evaluar la eficacia del tratamiento con células madre mesenquimales sobre patologías ya instauradas y con un tiempo de evolución previo.

Respecto a las distintas modalidades de administración de las células madre, la inyección directa con medio aséptico se presenta como la manera más sencilla de administrarla<sup>37</sup>. Su procedimiento es muy similar a una infiltración, muy a menudo realizada en la práctica clínica y que no suele dar mayores complicaciones si se realiza correctamente. Ésta es una de las grandes ventajas de este tratamiento, pues su tiempo de recuperación es corto y con pocos efectos adversos.

Existen distintas fuentes para la obtención de las células madre mesenquimales, de médula ósea, de tejido adiposo, del cordón umbilical, etc. Cada una de ellas con sus características propias y capacidades de diferenciación distintas definidas por estudios *in vitro*<sup>15</sup>. Sin embargo no existen estudios comparativos en cuanto a la capacidad de regeneración articular de unos tipos u otros. Por ello es necesaria más investigación en este aspecto.

Además las células madre mesenquimales se pueden clasificar según su capacidad de diferenciación en totipotenciales o multipotenciales. En la gran mayoría de los estudios revisados se utilizaron células madre mesenquimales derivadas de tejido esquelético con capacidad multipotencial, sólo en un caso<sup>20</sup> se utilizaron células madre embrionarias animales totipotenciales con una capacidad mayor de diferenciación y más prolongada en el tiempo. El uso de células madre embrionarias en humanas es muy controvertido<sup>37</sup> y se muestra como un problema ético de primer orden.

El hecho de que existan diferentes tipos de matrices para la implantación, como pueden ser el suero fisiológico<sup>21</sup>, el suero hilano<sup>30</sup> o hidrogel de colágeno<sup>36</sup> y que todos ofrezcan resultados positivos es un punto a favor muy a tener en cuenta. Esto muestra lo que se podría denominar como una efectividad general en distintos medios o condiciones de este tratamiento. Para evaluar la mayor o menor eficacia entre los distintos tipos de matrices es necesaria más investigación y más estudios que comparen los resultados de la utilización de unos u otros tipos de matrices. Ciertos estudios utilizaron factores tróficos específicos junto con la implantación de células madre<sup>31, 32</sup>. Se observaron mejores resultados respecto a utilizar únicamente células madre mesenquimales. Aun así, sería necesario una investigación mas profunda para conocer las posibles sinergias que pudieran establecerse en el empleo simultáneo de ambos tratamientos.

En consonancia con lo anterior, el cultivo de las células en el laboratorio, previa a la implantación en el paciente, fue muy variado. Se utilizaron condiciones hipóxicas, medio de Eagle modificado Dulbecco con o sin fetal bovino añadido, por nombrar algunos. Pero en ningún caso se comparó la

efectividad de utilizar uno u otro medio. Además cada estudio definió la concentración o la cantidad de células a infiltrar en cuanto a criterios propios, por lo tanto podemos concluir que no existe un criterio unificado para su utilización.

Además, los períodos de evaluación estuvieron muy condicionados a los modelos animales utilizados. Los estudios realizados sobre ratas<sup>21</sup> se desarrollaron en períodos de evaluación cortos, de varias semanas máximo. Los estudios clínicos y preclínicos en otros tipos de animales tuvieron tiempos de mayor duración en algún caso hasta los 24 meses<sup>20</sup>. En humanos los estudios comprendieron un mínimo de 6 meses hasta 11 años<sup>35</sup>. Este punto es especialmente importante pues los efectos de la terapia con células madre mesenquimales es más efectiva y muestra mejores resultados a medio o largo plazo. Sin embargo, y pese a los tiempos de evaluación tan cortos, el hecho de mostrar resultados positivos es algo prometedor.

En relación a lo anterior los criterios de evaluación han variado notablemente. Cada artículo utilizó criterios de evaluación condicionados en función del modelo utilizado. Así los estudios con animales han ido más allá que en humanos al permitir el empleo de técnicas de evaluación más agresivas como pueden ser cortes histológicos<sup>23</sup>, pruebas químicas<sup>20</sup>, etc.

Con respecto a la seguridad del tratamiento, no se encontraron efectos contrarios que desaconsejaran la utilización del mismo. Sólo un estudio<sup>35</sup> trató específicamente este punto a lo largo del tiempo sin resultados negativos. Sin embargo, y con relación al punto anterior es necesario un seguimiento a más largo plazo para evitar en lo posible efectos indeseados y además encontrar posibles contraindicaciones a su utilización. Un estudio<sup>22</sup> indicó efectos adversos pero relacionados con el procedimiento de la inyección.

Las líneas futuras en la investigación con células madre deberían ir orientadas al perfeccionamiento técnico de su utilización. El avance en el conocimiento que tenemos sobre las técnicas de cultivo, implantación e indicaciones, repercutirá en alcanzar mejores resultados en la terapia con este

tipo de células. De este modo y a largo plazo, convertirá esta modalidad terapéutica en una alternativa más con sus indicaciones y características propias, que podría llegar a mejorar las aplicaciones de estas células y, que no necesariamente esté destinada a reemplazar los tratamientos empleados en la actualidad.

## **Conclusiones**

Tras revisar la bibliografía consultada, podemos concluir que:

- 1- Los estudios revisados muestran buenos resultados en el tratamiento de patologías articulares con células madre mesenquimales, sobre todo a medio y largo plazo respecto al tratamiento convencional. Por tanto, la terapia con células madre se presenta como una gran alternativa terapéutica a emplear en el futuro.
- 2- La utilización de células madre mesenquimales ofrece diversas ventajas respecto al tratamiento quirúrgico al ser menos invasiva y con un menor tiempo de recuperación.
- 3- Pese a que existen estudios para otro tipo de patologías con resultados positivos, la principal indicación de las células madre mesenquimales son los problemas degenerativos inflamatorios de rodilla.
- 4- El tratamiento con células madre mesenquimales no es aún susceptible de una implantación sistemática y generalizada en la práctica clínica diaria, pues se necesita perfeccionar la metodología de extracción, cultivo y administración.

## **Agradecimientos**

Ana Novo Caaveiro y Juan Álvarez Rodríguez, por sus valores inculcados y por su incondicional apoyo.

Juan Francisco López Sardiña, por los incansables ánimos.

María del Carmen De Andrés González, por su ayuda y asesoramiento.

Mónica Folgueiro Otero, por su inestimable ayuda y comprensión, sin ella este trabajo no sería posible

## **Bibliografía**

- 1- Casals M, Samper D. *Epidemiology, prevalence and quality of life of non-malignant chronic pain. ITACA study. Rev Soc Esp Dolor. 2004; 11: 260-269.*
- 2- Iwamoto M, Ohta Y, Larmour C, Enomoto-Iwamoto M. *Towards Regeneration of Articular Cartilage. Birth defects research Part C, Embryo today : reviews. 2013;99(3):192-202.*
- 3- Sun L, Reagan MR, Kaplan DL. *Role of Cartilage Forming Cells in Regenerative Medicine for Cartilage Repair. Orthopedic research and reviews. 2010;2010(2):85-94.*
- 4- Sánchez-Martín MM. *Artrosis. Etiopatogenia y tratamiento. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid. 2013;50:181-201.*
- 5- Tobón S, Cadena J, Moreno E, Vinaccia S Anaya JM. *Evaluación de la calidad de vida en pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide. International journal of psychology and psychological therapy. 2005;5(1):47-61.*
- 6- Álvarez A, García Y, Puentes A, García M. *Osteonecrosis de la rodilla: enfoque actual. Archivo médico de Camagüey. 2010;14(5).*
- 7- García-Pérez L, Arvelo-Martín A, Guerra-Marrero C, Martínez-Alberto CE, Linertová R, Cuéllar-Pompa L. *Revisión del coste-efectividad de las intervenciones de fisioterapia en la artrosis de rodilla. Santa Cruz de Tenerife. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud 2013.*
- 8- Fernández J, García-Miguel C, Álvarez A, Alonso A, Suárez ML. *Comparación analgésica postquirúrgica de la infiltración corticoanestésica y la anestésica pura tras meniscectomía artroscópica de rodilla. Trauma. 2014;25(3):157-160.*
- 9- Roura P, Balcells E. *Eficacia y seguridad de la artroplastia de rodilla. Axencia de Avaliación de Tecnoloxias Sanitarias de Galicia. 2002.*
- 10-Reichenbach S, Rutjes A, Nüesch E, Trelle S, Jüni P. *Lavado articular para la osteoartritis de la rodilla. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2010;5.*

- 11- Goldring MB. *Chondrogenesis, chondrocyte differentiation, and articular cartilage metabolism in health and osteoarthritis. Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease.* 2012;4(4):269-285.
- 12- Sun L, Reagan MR, Kaplan DL. *Role of Cartilage Forming Cells in Regenerative Medicine for Cartilage Repair. Orthopedic research and reviews.* 2010;2010(2):85-94.
- 13-Bornes TD, Adesida AB, Jomha NM. (). *Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic articular cartilage defects: a comprehensive review. Arthritis Research & Therapy.* 2014;16(5):432.
- 14- Arévalo JA, Páez DM, Rodríguez VM. *Células madre mesenquimales: Características biológicas y aplicaciones clínicas. NOVA.* 2007; 5(8):177-183.
- 15- Beane OS, Darling EM. *Isolation, Characterization, and Differentiation of Stem Cells for Cartilage Regeneration. Annals of biomedical engineering.* 2012;40(10):2079-2097.
- 16- Schmitt A, van Griensven M, Imhoff AB, Buchmann S. *Application of Stem Cells in Orthopedics. Stem Cells International.* 2012;2012:394962.
- 17-- Aoyama T, Goto K, Kakinoki R, Ikeguchi R, Ueda M, Kasai Y, Maekawa T, Tada H, Teramukai S, Nakamura T, Toguchida J. *An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts. Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20(4):233-242.
- 18- Ishihara K, Nakayama K, Akieda S, Matsuda S, Iwamoto Y. *Simultaneous regeneration of full-thickness cartilage and subchondral bone defects in vivo using a three-dimensional scaffold-free autologous construct derived from high-density bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Journal of Orthopaedic Surgery and Research.* 2014;9:98.
- 19- Kehoe O, Cartwright A, Askari A, El Haj AJ, Middleton J. *Intra-articular injection of mesenchymal stem cells leads to reduced inflammation and cartilage damage in murine antigen-induced arthritis. Journal of Translational Medicine.* 2014;12:157.



- 20- Pilichi S, Rocca S, Pool RR, et al. Treatment with embryonic stem-like cells into osteochondral defects in sheep femoral condyles. *BMC Veterinary Research*. 2014;10:301.
- 21- Diekman BO, Wu CL, Louer CR, et al. Intra-articular delivery of purified mesenchymal stem cells from C57BL/6 or MRL/MpJ superhealer mice prevents post-traumatic arthritis. *Cell transplantation*. 2013;22(8):1395-1408.
- 22- Nicpoń J, Marycz K, Grzesiak J. Therapeutic effect of adipose-derived mesenchymal stem cell injection in horses suffering from bone spavin. *Pol J Vet Sci*. 2013;16(4):753-754.
- 23- Horie M, Choi H, Lee RH, et al. Intra-articular Injection of Human Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Promote Rat Meniscal Regeneration by Being Activated to Express Indian Hedgehog that Enhances Expression of Type II Collagen. *OARS*. 2012;20(10):1197-1207.
- 24- Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, Shahram F, Nikbin B. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. *Int J Rheum Dis*. 2011;14(2):211-215.
- 25- Haleem AM, Singergy AA, Sabry D. The Clinical Use of Human Culture–Expanded Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplanted on Platelet-Rich Fibrin Glue in the Treatment of Articular Cartilage Defects: A Pilot Study and Preliminary Results. *Cartilage*. 2010;1(4):253-261.
- 26- Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M, Karli D. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. *Pain Physician*. 2008;11(3):343-353.
- 27- Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, Gingerich DA, Harman R. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. *Vet Ther*. 2007;8(4):272-284.

- 28- Yamazoe K, Mishima H, Torigoe K, Iijima H, Watanabe K, Sakai H, Kudo T. *Effects of atelocollagen gel containing bone marrow-derived stromal cells on repair of osteochondral defect in a dog. J Vet Med Sci.* 2007;69(8):835-839.
- 29- Ripoll PL, De Prado M, Yelo J. *Osteonecrosis de la rodilla. Perfusión células mesenquimales de cresta iliaca. Trauma.* 2009;20(4).
- 30- Ferris DJ, Frisbie DD, Kisiday JD, McIlwraith CW, Hague BA, Major MD, Goodrich LR. *Clinical outcome after intra-articular administration of bone marrow derived mesenchymal stem cells in 33 horses with stifle injury. Veterinary Surgery.* 2014;43(3):255-265.
- 31- Jo CH, Lee YG, Shin WH, Kim H, Chai JW, Jeong E C, Yoon KS. *Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: A proof-of-concept clinical trial. Stem Cells.* 2014;32(5):1254-1266.
- 32- Koh Y, Kwon O, Kim Y, Choi Y. *Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment: A prospective study. Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery.* 2014;30(11):1453-1460.
- 33- Lee KB, Hui JH, Im CS, Ardany L, Eng HL. *Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects - A porcine model. Stem Cells.* 2007;25(11):2964-2971.
- 34- Wong KL, Lee KB, Tai BC, Law P, Lee EH, Hui JH. *Injectable cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in varus knees with cartilage defects undergoing high tibial osteotomy: A prospective, randomized controlled clinical trial with 2 years' follow-up. Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery.* 2013;29(12):2020-2028.
- 35- Wakitani S, Okabe T, Horibe S, Mitsuoka T, Saito M, Koyama T, Ohgushi H. *Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for cartilage repair in 41 patients with 45 joints followed for up to 11 years and 5 months. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* 2011;5(2):146-150.

- 36- Zscharnack M, Hepp P, Richter R, Aigner T, Schulz R, Somerson J. *Repair of chronic osteochondral defects using predifferentiated mesenchymal stem cells in an ovine model. American Journal of Sports Medicine.* 2010;38(9):1857-1869.
- 37- Borrás A, Calcedo V, Ojeda J, Clavel-Sáinz C. *Eficacia y seguridad de una única inyección intraarticular de ácido hialurónico al 2% más manitol en artrosis de rodilla durante un periodo de 6 meses. Revista española de cirugía ortopédica y traumatología.* 2012;56(4):274-280.
- 38- Marzo M, Viana C. *Calidad de la evidencia y grado de recomendación. [Fisterra.com]. Guías clínicas; 2007; [acceso el 18 de Junio de 2015]. Accesible en <http://www.fisterra.com/guias2/fmc/sintesis.pdf>*