

**Discurso de Investidura como Doctor Honoris Causa de la
Universidad Católica San Antonio de Murcia**

***“Aportación de los Cultivos Celulares (Condrocitos) en las Lesiones de
las Articulaciones Dañadas***

***REGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO. Desde ACI a MACI
y desde ICC a IPC”***

Stephen P. Abelow, M.D., F.A.C.S

Murcia, 12 de junio de 2015

Saludos y Palabras de Agradecimiento.

- Excelentísimo Presidente de la Universidad Católica San Antonio de Murcia, D. José Luis Mendoza.
- Su Eminencia Reverendísima Cardenal Antonio Cañizares Llovera, Obispo de Valencia.
- Excelentísima y Magnífica Rectora de esta Universidad, Dña. Josefina García.
- Excelentísimo y Reverendísimo Señor Obispo de la Diócesis de Cartagena.
- Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades Académicas, Eclesiásticas, Civiles y Militares.
- Claustro de profesores, personal de administración y servicios, alumnos e invitados a este solemne acto académico.

Ser nombrado Doctor Honoris Causa por la Universidad Católica San Antonio de Murcia es un sueño que nunca imaginé, y que ha sido posible por la benevolencia de todos los miembros de la UCAM.

Es un gran honor para mí recibir tan alta distinción y agradezco profundamente al departamento de la Cátedra de Traumatología del Deporte, en nombre de su director, el Prof. Pedro Guillén, que propuso mi investidura. Querido amigo Pedro Guillén, muy agradecido por tu amistad y generosidad.

Aportación de los Cultivos Celulares (Condrocitos) en las Lesiones de las Articulaciones Dañadas

REGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO. Desde ACI a MACI y desde ICC a IPC”

Stephen P. Abelow, M.D., F.A.C.S

El cartílago articular es un tejido conectivo que cubre las superficies articulares y tiene importantes propiedades biológicas y biomecánicas. Con un coeficiente de fricción de 0,002, el cartílago articular es 1.000 veces más resbaladizo que el hielo al contacto con el propio hielo.¹ Permite la fricción mínima entre fuerzas conjuntas opuestas que con el movimiento distribuye el peso sobre las articulaciones en zonas amplias y minimiza las tensiones máximas sobre el hueso subcondral.²

El 95% del contenido del colágeno en el cartílago articular es colágeno de tipo II, que proporciona el marco cartilaginoso y la fuerza extensible. El colágeno de tipo II tiene una vida media de aproximadamente 25 años y es en consecuencia muy estable.¹

El cartílago articular carece de vasos sanguíneos (avascular), de nervios (aneural) y de vasos linfáticos (alinfático) por lo tanto tiene una capacidad limitada de reparación o regeneración intrínseca. Esto se complica por el hecho de que los condrocitos (las células básicas de cartílago adulto que sintetizan la matriz extracelular) están rodeados por una matriz extracelular espesa y no son capaces de migrar de la matriz no lesionada a una zona lesionada (Figura 1). Los condrocitos producen un colágeno de tipo II.

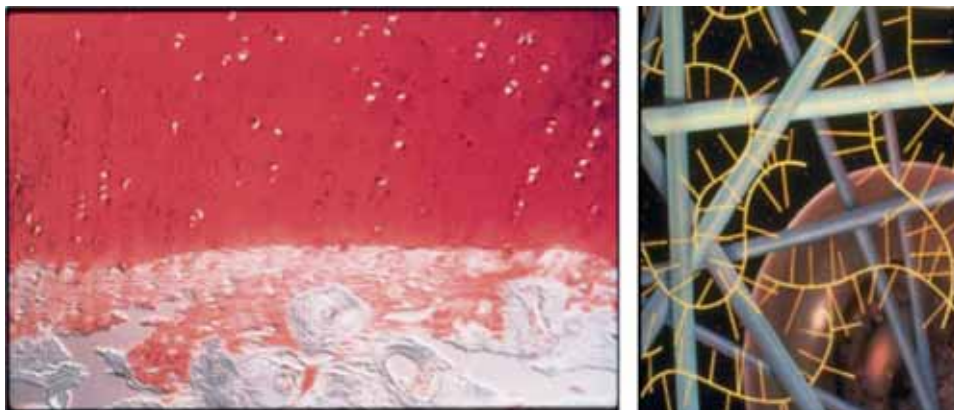


Figura 1

Buckwalter y Mankin señalaron que las lesiones del cartílago que no comprometen el hueso subcondral visten una difícil recuperación. Lesiones de grosor total que violan el hueso subcondral pueden formar un tejido fibrocartilaginoso (o hueso endocondral).³

El objetivo de cualquier procedimiento de restauración del cartílago es restaurar la superficie articular haciendo coincidir las propiedades histológicas, bioquímicas y biomecánicas del cartílago hialino normal, mejorar los síntomas y la función y prevenir o retrasar la progresión de la lesión condral focal en el estadio terminal de la artritis.

El propósito de mejorar la cura de las lesiones del cartílago a través de la implantación de condrocitos autólogos y de la ingeniería de tejidos constituye nuestra meta actual.

MODALIDADES DE TRATAMIENTO PARA EL CARTÍLAGO

Lavado articular: se ha utilizado con la idea de enjuagar la articulación para eliminar residuos y enzimas catabólicos. No hay regeneración de cartílago hialino. Se han reportado resultados variables a corto plazo pero no se han registrado mejoras a largo plazo estadísticamente significativas.

Desbridamiento: se ha utilizado para eliminar los síntomas mecánicos de un colgajo condral suelto, cuerpos libres, cartílago degenerativo, osteofitos, o para sinovectomía. No se ha intentado reparar o reemplazar el cartílago articular dañado. Esto es en gran parte un procedimiento paliativo y cualquier alivio positivo inicial de los síntomas a menudo disminuye con el tiempo.

Técnicas de estimulación de la médula como artroplastia de abrasión, perforación o micro-fractura se elaboraron para permitir el acceso a la zona lesionada a las células madres mesenquimales y a otros elementos bioactivos curativos, con el fin de estimular una respuesta de sanación en el cartílago. El problema de estas técnicas es que proporcionan un relleno fibrocartilaginoso sobre el defecto del cartílago. El tejido fibrocartilaginoso regenerado tiene menos Col II, más Col I y menos agregano del cartílago hialino normal.⁴ Una revisión sistemática a Nivel II, de 15 estudios de Nivel I y II de Goyal et al. en 2013, observó resultados clínicos positivos durante el seguimiento a corto plazo para tratamiento de lesiones pequeñas en pacientes con bajas

demandas postoperatorias. Los pacientes más jóvenes mostraron mejores resultados clínicos. Señalaron que “Después de 5 años desde la operación se podría esperar un fracaso del tratamiento tras una micro fractura, independientemente del tamaño de la lesión.”⁵

Autoinjerto Osteocondral (OAT/ Mosaicoplastia) es la transferencia de un tapón osteocondral de hueso y cartílago de un área de baja tensión a una superficie de cartílago dañado. Estos se han utilizado con éxito en defectos de cartílago de tamaño tanto moderado como en grande (1.5-3cm de diámetro). Las preocupaciones mayores que se plantean con la practica Oat/Mosaicoplastia son que “desnuden a un santo para vestir otro,” una morbilidad de la zona donante, malangulación, malrotación, y autoinjerto que sean demasiado sobresalientes o demasiado avellanados. Si se utilizan varios tampones de hueso podría haber espacios muertos entre los injertos circulares. También se pueden encontrar diferentes espesores y propiedades mecánicas entre el donador y el cartílago articular receptor (ej. El cartílago articular de la rodilla tiene entre 3-6 mm de espesor mientras el cartílago articular del astrágalo 8,9 mm). La transferencia osteocondral autóloga parece proporcionar resultados de buenos a excelentes en varios casos. (Fig 4)

Técnicas Alternativas

Estimulación de la Médula	Autoinjertos	Alloinjertos
		
<ul style="list-style-type: none"> - Recomendado para defectos pequeños, < 2 cm² - Tejido de reparación de fibrocartilago - Alivio sintomático a corto plazo - Violación del hueso subcondral 	<ul style="list-style-type: none"> - Recomendado para defectos pequeños, < 2 cm² - Morbilidad de la zona donante - Repavimentación incongruente, efectos adecuín 	<ul style="list-style-type: none"> - Recomendado para pacienets de salvamento con defectos extensos, >10 cm² y pérdida ósea significativa - Viabilidad celular discutible - Impredecible disponibilidad del tejido

Figura 4

Los aloinjertos osteocondrales se han realizado con éxito para defectos más extensos del cartílago. Es un procedimiento a fase única y se puede utilizar para pérdidas óseas profundas. Los aloinjertos deben cosecharse dentro de las 24 horas después de la muerte del donante si son 100% viables y se pueden almacenar a 40C durante un máximo de 28 días. Los aloinjertos no se deben congelar puesto que la congelación del aloinjertos condrales conduce a la muerte de los condrocitos y no es apropiado para la preservación del injerto. La viabilidad celular disminuye después de 5 días. La correspondencia entre el tejido y la supresión inmunológica son innecesarias. Bugbee et. al. reportó una sobrevivencia del 86% a los diez años del seguimiento (92 pacientes; estudio de Cohorte de Nivel III).⁶ Según el Dr. Bugbee se deben considerar 1-3 mm de subsistencia y el 28% 4-5 mm de subsistencia.⁷

Las indicaciones para las técnicas quirúrgicas de sustitución del cartílago son lesiones sintomáticas profundas caracterizadas por la Sociedad Internacional de Reparación del Cartílago (ICRS) Grado 3 (más del 50% de profundidad de cartílago y en dirección descendente, pero no a través del hueso condral) y Grado 4 : hueso subcondral expuesto (con lesiones que se extienden a través de la placa ósea subcondral o más profundamente en el hueso trabecular). No debería haber ninguna alineación incorrecta o inestabilidad y ninguna artrosis significativa. (Fig. 2,3)



Figura 2



figura 3

IMPLANTES DE CONDROCITOS AUTÓLOGOS

El implante de condrocitos autólogos (ACI) es la implantación de condrocitos autólogos *in vitro* en cultivo utilizando una cubierta de tejido perióstico después de la expansión de los condrocitos aislados.

El implante de condrocitos autólogos (ACI) fue señalado por primera vez por Brittberg y sus compañeros de trabajo en Gotemburgo, Suecia, en 1994,⁸ de ellos han sido utilizados con éxito en la articulación de la rodilla y el tobillo. Este procedimiento ha dado un 80-90% de buenos a excelentes resultados en los casos de lesiones aisladas del cartílago articular y osteocondritis disecante en los cóndilos femorales de la rodilla.

El ACI es un proceso de dos etapas. Los condrocitos del cartílago articular se cosechan por técnicas artroscópicas o abiertas. Se cultivan los condrocitos *in vitro* durante 3-5 semanas, se expanden y se reimplantan por artrotomía. Un injerto de periostio debe ser cosechado y suturado sobre el defecto condral de una manera "hermética" (2.3 mm de distancia). Los condrocitos autólogos cultivados se inyectan entonces en el defecto bajo el parche perióstico y se cierra la incisión artrotómica. A menudo, esto requiere la realización de una gran incisión artrotómica para permitir la sutura adecuada del injerto del periostio. Las complicaciones incluyen la hipertrofia del injerto, la delaminación del defecto, y la adherencia intra-articular^{9,10} (FIG. 5)

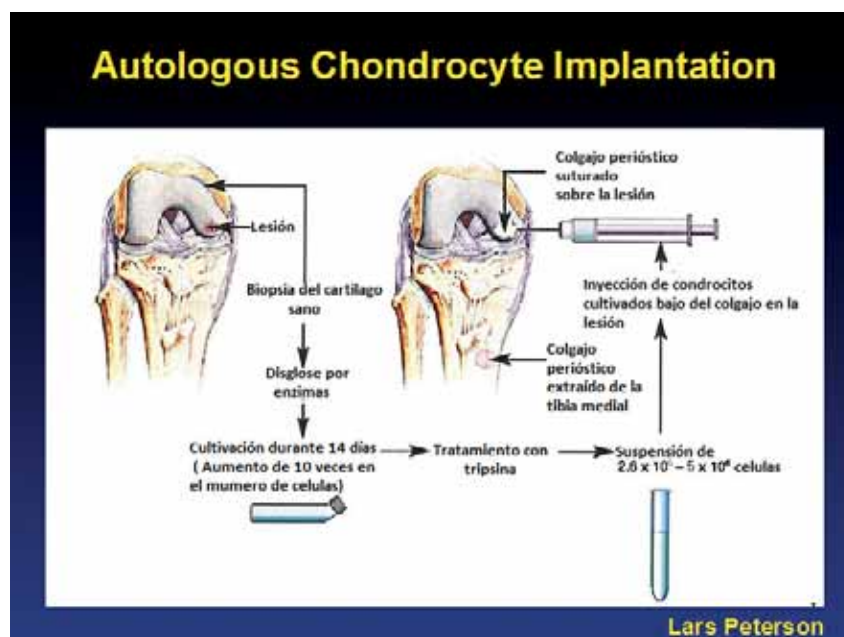


Figura 5

Desde 1996 a 2001 se realizaron 152 casos de ACI. El tamaño promedio del defecto fue de 6,1 cm (0,25 cm-13,5). Hubo 146 rodillas y 6 tobillos (cóndilo femoral medial 64). Edad media: 30 años (12-54 años). Resultados (retrospectiva nivel 5) de 3 a 8 años de seguimiento: 82% buena a excelente, 13% razonable; 5% deficiente. Hubo un caso significativo de delaminación perióstica en un jugador de fútbol de élite.

IMPLANTES DE CONDROCITOS AUTÓLOGOS CUBIERTOS DE COLÁGENO(CACI)

La recolección y la sutura de un parche de periostio en la implantación de condrocitos autólogos son técnicamente exigentes y requieren un tiempo excesivo. Problemas como la calidad perióstica del parche, hipertrofia perióstica sintomática, y delaminación han llevado al desarrollo de membranas biocompatibles y bioabsorbibles para cubrir el defecto condral. Una membrana bicapa I/III de colágeno porcino absorbible (Condro-Gide, biomaterial Geistlich, Wolhuser Suiza) se ha utilizado en lugar de un parche de periostio. La membrana se degrada por división enzimática (colágenas) y los resultantes fragmentos de colágeno se desnaturalizan a gelatina a 37 grados C. (Figs 6,7)



Figura 6



Figura 7

¿Es un necesario un parche perióstico? En un estudio prospectivo Steinwachs observó 63 pacientes con una membrana de colágeno (Condro-Gide) ACI.¹¹ 88% reportó resultados de buenos a excelentes tres años después de la cirugía. No hubo ningún caso de hipertrofia de la membrana. En otro estudio, 100 pacientes fueron sometidos a ACI con un parche de periostio con un reporte de 78% de buenos a excelentes resultados.¹²

IMPLANTES DE CONDROCITOS AUTÓLOGOS INDUCIDOS POR MEMBRANA-MATRIX (MACI)

El MACI es un proceso de implantación de condrocitos de tercera generación. Es una nueva biotecnología que permite la impregnación de condrocitos autólogos cultivados en una membrana de colágeno porcino I / III altamente purificado (Vericell, Cambridge, MA). El implante MACI se puede fijar al defecto condral con cola de fibrina (con poca o ninguna sutura necesaria), con sutura, con pernos o con tachuelas bioabsorbibles. El procedimiento se puede realizar por artroscopia o por mini-artrotomía y no se necesita ningún injerto perióstico. (Fig. 8)

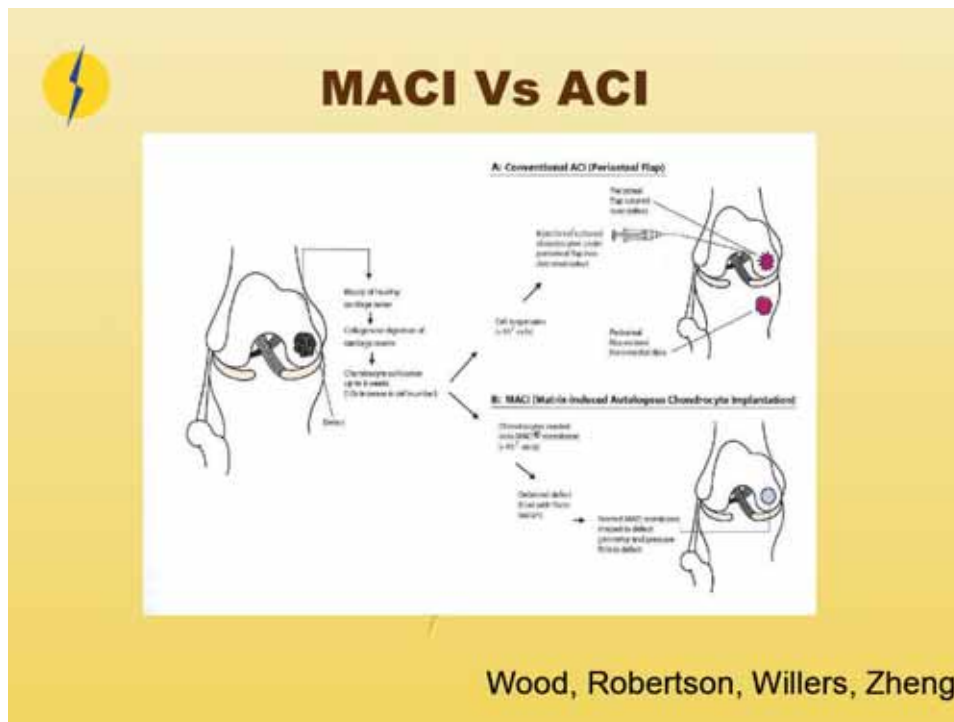


Figura 8

TÉCNICA DE MACI ABIERTO

Inicialmente se cosechan los condrocitos artroscópicamente de una zona sin carga de peso de la rodilla ipsilateral (200-300 mg de cartilago sano). (Fig. 13)



Figura 13

A continuación se cultivan los condrocitos, se expanden in vitro (durante 3-5 semanas) y luego se impregnan en una membrana absorbible tridimensional a dos capas, de colágeno porcino I/III. La estructura bicapa tiene un lado suave no poroso, actúa como una barrera natural y se sitúa frente a la articulación. Los condrocitos se siembran en el lado poroso de la matriz. La membrana es resistente a la rotura y puede ser fácilmente adaptada y recortada en la forma deseada. La membrana no es auto-adherente y puede ser "enrollada" y manejada con instrumentación artroscópica estándar que permite la implantación artroscópica de la membrana.^{13,14,15} La membrana no es antigénica (los telopéptidos se parten durante el proceso de fabricación) y es bioabsorbible. Puede ser fijada al defecto del cartílago con pegamento de fibrina, alfileres o sutura (Fig. 7,8)

Utilizando técnicas de mini-Artrotomía o Artrotomías el defecto del cartílago se desbrida y curetea con una cureta de anillo afilado para eliminar la capa de cartílago fibroso calcificado sin penetrar en el hueso subcondral. (Hay que evitar el sangrado del hueso subcondral) (Fig 9).



Figura 9

Se crea así una llanta de cartílago estable con paredes verticales afiladas de cartílago sano. (Nota: todo el cartílago "dañado" debe ser desbridado y traído a una frontera saludable estable). (Figuras 9, 10,11,12). Los osteofitos

intralesionales, en sus casos deben ser eliminados. El defecto condral se mide basado en una plantilla. (Figuras14,15)



Figura 10



Figura 11

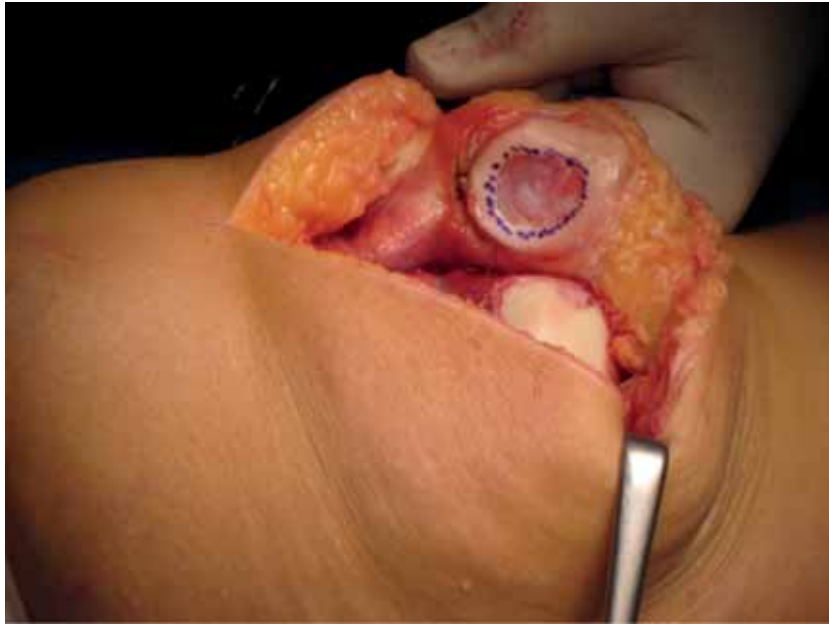


Figura 12

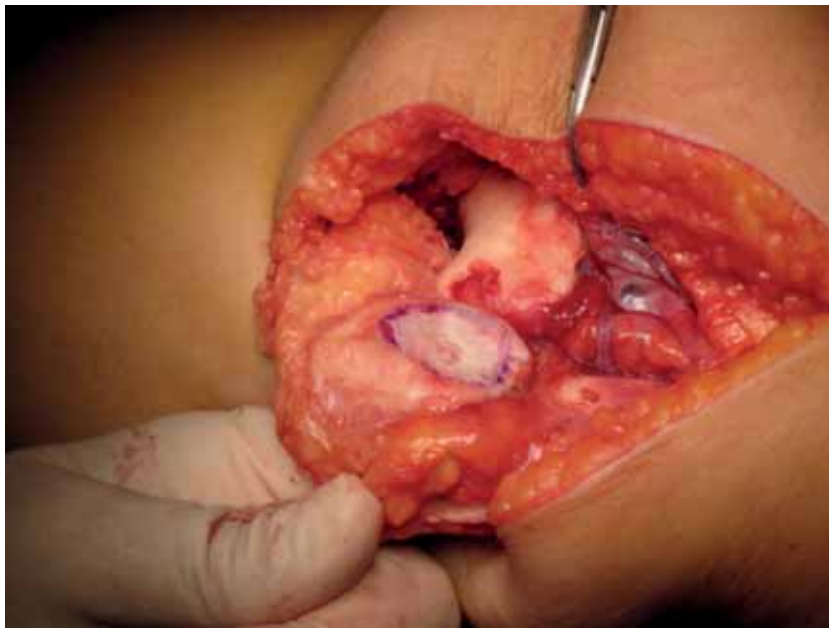


Figura 14



Figura 15



Figura 16

La membrana MACI se corta a la forma adecuada con un bisturí o unas tijeras. (Figs 15,16) La membrana se fija entonces con pegamento de fibrina (Tisucol, Baxter, España). Se utiliza sutura para la rótula (fig. 18)

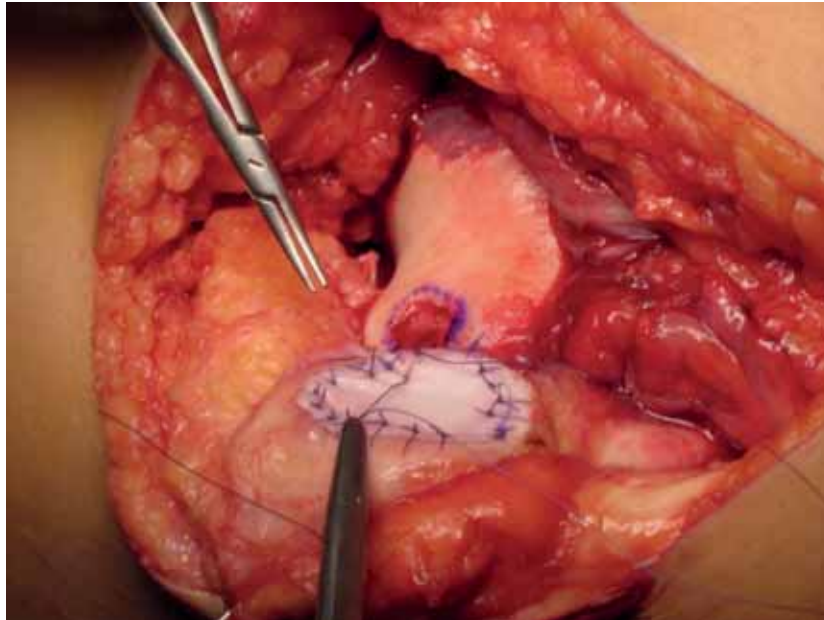


Figura 18

Después de la operación se pone un vendaje suave al paciente y se coloca en movimiento pasivo continuo (cuando esté disponible) durante 8 semanas. Se mantiene el paciente en actividad con carga de peso parcial durante 8 semanas. Para lesiones centrales más grandes se mantienen carga de peso parcial durante 12 semanas

TECNICA ARTROSCÓPICA MACI ^{13,14,15}

Después de una biopsia previa y del cultivo de los condrocitos, se realiza una artroscopia estándar a través de una cánula artroscópica especialmente diseñada y se desbrida el defecto del cartílago utilizando una cureta con anillo afilado para eliminar la capa de cartílago calcificado. Se crea un borde estable con paredes verticales afiladas de cartílago sano. Usando una regla flexible, una sonda estándar y una pinza artroscópica especialmente diseñada, se calcula el tamaño de la lesión. Se crea una plantilla (utilizando envases de un paquete de sutura o drenaje de goma) y se coloca en el defecto de cartílago para la prueba de tamaño.

Se visualiza el área del defecto del cartílago utilizando un microscopio (aire ambiente, sin insuflación). En la Clínica CEMTRO se ha desarrollado una instrumentación que permite perforar la membrana MACI en su centro y luego colocarla en el centro del defecto del cartílago. A continuación se empuja la membrana dentro de la cánula con un insertador articulado ranurado y se mantiene fijo por el "pincho" artroscópico. El pegamento de fibrina se coloca entonces debajo de la membrana MACI, y la membrana se alisa utilizando un tamper articulado con forma de "T". Se retira el exceso de pegamento, y las membranas contornean el defecto del cartílago mientras que la cola de fibrina se ajusta. Anclajes de sutura mini o pasadores absorbibles pueden ser utilizados si se requiere una fijación más segura para la estabilidad. Se produce un rango de movimientos de la articulación para asegurar la estabilidad del injerto. (Fig. 19,20)

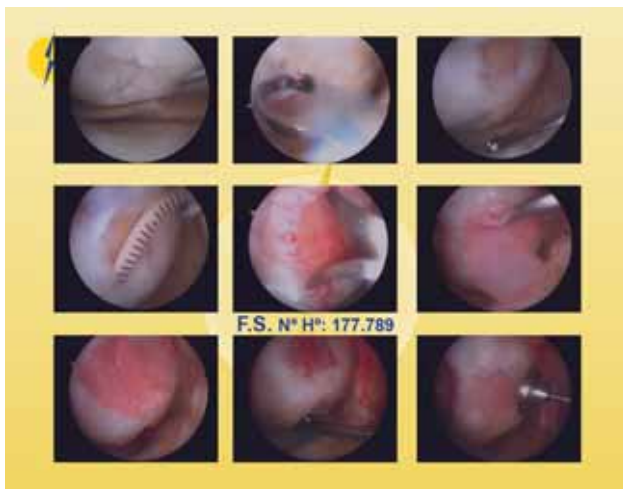


Figura 19



Figura 20

ICC (Figuras 9-18)

La membrana MACI, como se suministra actualmente, es de 3x5 cm y se siembra con 1 millón de condrocitos por cm^2 para un total de 15 millones de condrocitos. (Anteriormente el tamaño de la membrana era 4x5 cm^2 con un total de 20 millones de condrocitos.)

Si se tuviera que tratar una lesión 3x2 cm^2 de la rótula con la técnica tradicional MACI, se utilizarían 6 millones de condrocitos y 9 millones de condrocitos serían "literalmente" desechados. La misma lesión tratada con ACI tradicional tendría potencialmente 12 millones de células en el sitio de la lesión del cartílago, que es el doble de la cantidad de condrocitos entregados en la misma lesión de tamaño tratado con MACI. Dado que un lado de la membrana no es poroso, las membranas MACI, realmente, no pueden ser apiladas una sobre otra. (Fig. 24)

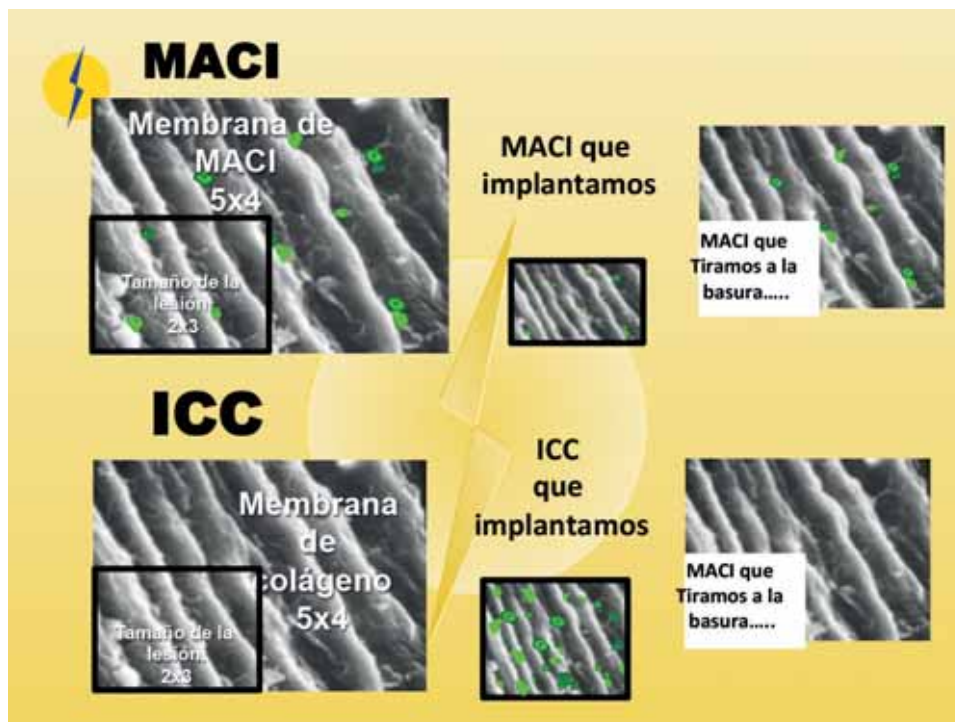


Figura 24

En la Clínica CEMTRO de la Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM) se investigó el concepto de "densidad celular" en relación con los condrocitos. En un reciente artículo sobre el cartílago, Foldger, Gomol, Lind y sus colegas afirman que "En ausencia de evaluaciones sistemáticas de los efectos de la densidad de las células y el resultado clínico, muchos médicos siguen utilizando uno o dos millones de condrocitos por cm^2 , que, a pesar de la falta de pruebas y del hecho de que la mayoría de los estudios *in vitro* apuntan hacia beneficios de altas intensidades, se ha asociado con resultados clínicos favorables y casi se aproxima a las densidades encontradas en cartílago articular nativo en adultos.¹⁸

En un intento para determinar el número ideal de células por centímetro cuadrado y que sean óptimas (célula mesenquimal o de condrocitos) en la Clínica CEMTRO se estudiaron 15 hembras de ovejas merinas con lesiones del cartílago articular tratados con condrocitos autólogos o células mesenquimales sembradas sobre membrana de colágeno porcino I/III. Los grupos experimentales fueron 5.000.000 de condrocitos por cm^2 ; 1 millón de condrocitos por cm^2 ; 5 millones de células mesenquimales por cm^2 ; y microfractura. Se analizaron todas las muestras para histología celular, el colágeno de tipo I, colágeno tipo II y agrecano. La expresión de agrecanos se observó en todas las muestras. El perfil de expresión de Col II (marcador de cartílago hialino) mostró que el grupo de control fue mayor de 5 millones de condrocitos, que era mayor que 1 millón de condrocitos, a su vez mayor que 5 millones de células mesenquimales, que era más que la microfractura. El perfil de expresión de Col I era en microfractura mayor que 5 millones de células mesenquimales mayores de 1 millón de condrocitos mayores de 5 millones de condrocitos. Los resultados fueron estadísticamente significativos. La histología mostró 5.000.000 y 1.000.000 condrocitos para tener una mayor estructura de cartílago hialino que cualquiera de la microfractura o implantación de 5 millones de células mesenquimales. El aumento de la densidad de condrocitos mejoró la calidad del tejido regenerado⁴ (Fig 21,22,23)

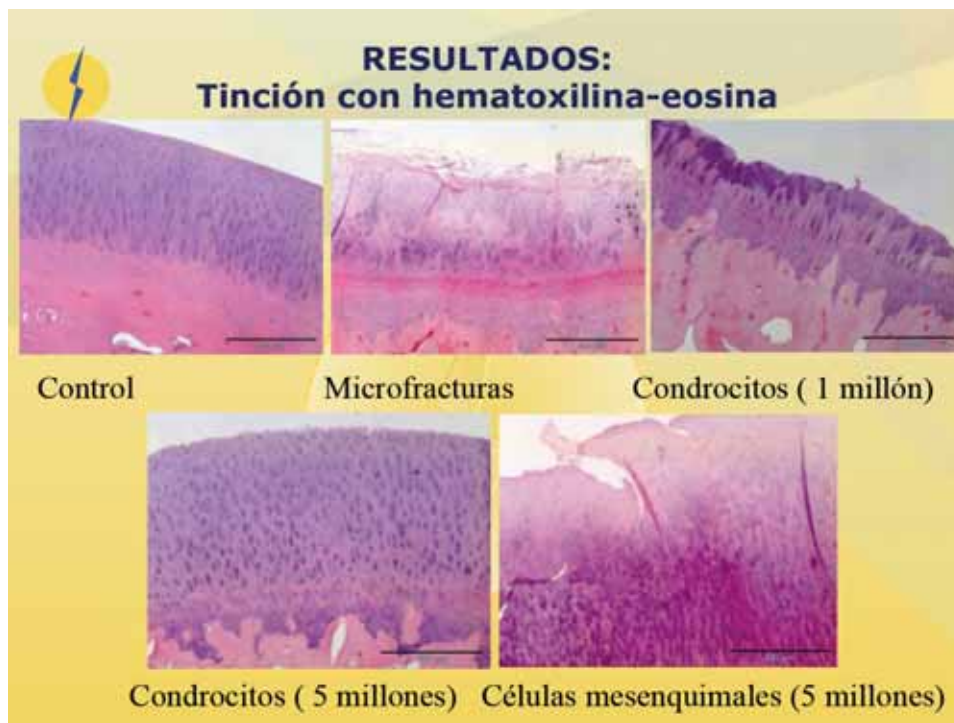


Figura 21



Figura 22



Figura 23

Basándose en el hecho de que 5 millones de condrocitos mostraron un tejido de cartílago regenerativo mejor que 1 millón de condrocitos y 5 millones de MSC, la Clínica CEMTRO ha desarrollado una modificación del procedimiento MACI aumentando el número de células por cm^2 sembradas sobre la membrana de colágeno. (Instant CEMTROCELL-CPI, Madrid, España). (Fig.24)

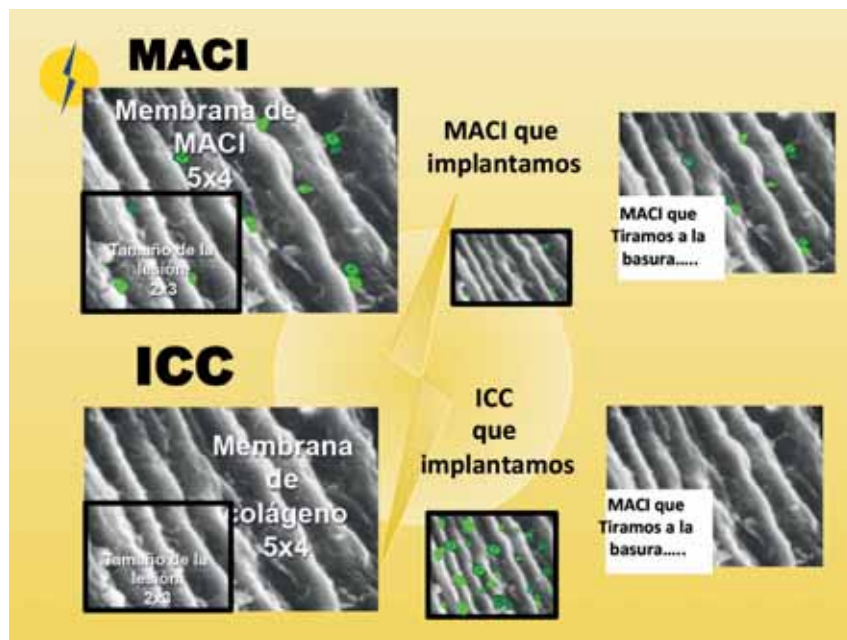


Figura 24

Después de la biopsia por artroscopia, del aislamiento de condrocitos, y del cultivo celular a 20 millones de células, la suspensión celular se transfirió a la sala de operaciones. La lesión se midió de acuerdo a la plantilla. (Fig. 14) La membrana de Chondro-Gide se cortó al tamaño de la lesión (Fig. 15,16) y la totalidad de la suspensión de células se sembró en ella. (Fig 17) Las células se sembraron en la membrana de colágeno porcino I/ III de acuerdo con el método de Steinwachs.¹¹ Los condrocitos cultivados se colocan en la membrana de colágeno y después de un período de 10 minutos de tiempo para permitir la absorción de los condrocitos, la membrana se implanta en el defecto del cartílago articular. (Por ejemplo, una lesión de 2x3 cm² cartílago recibiría más de 3 millones de condrocitos por cm² (Figura 17)



Figura 17

Los estudios histológicos y genéticos de la CPI han demostrado, hasta ahora, una proliferación de matriz de colágeno, una población de condrocitos maduros viables, y la población inmadura de condrocitos con ausencia de expresión de la proteína S-100, la ausencia de mitosis atípicas (ausencia de expresión de P52), y una capacidad proliferativa.

Cartilago Nativo, Cartilago Regenerado, y MACI: Un Estudio Comparativo¹⁶

En un intento de definir la adecuación de los condrocitos cultivados se estudió la distribución de células en el tejido, la morfología celular, el colágeno tipo II y X, y la presencia FGFR3 (factor de crecimiento Fibroblástico Receptor 3) en el cartílago nativo, cartílago regenerado y MACI). (En la acondroplasia hay una mutación heterocigota del gen que codifica el factor de crecimiento fibroblástico 3).

El cartílago sano tenía $117,6 \pm 6,2$ células / mm^2 en comparación con el cartílago regenerado, que tenía $57,3 \pm 2,7$ células / mm^2 . (Figura 27). Un análisis comparativo por Western Blot electroforesis demostró la presencia de colágeno normal de tipo II en el cartílago nativo y MACI y poco cartílago de tipo II en el tejido regenerado. (Figura 28) En cuanto a colágeno tipo X, los resultados inversos estaban presentes. Había abundante colágeno tipo X en el cartílago regenerado y sólo un mínimo de colágeno tipo X en el cartílago nativo y MACI cartílago. (Figura 29)



Figura 27

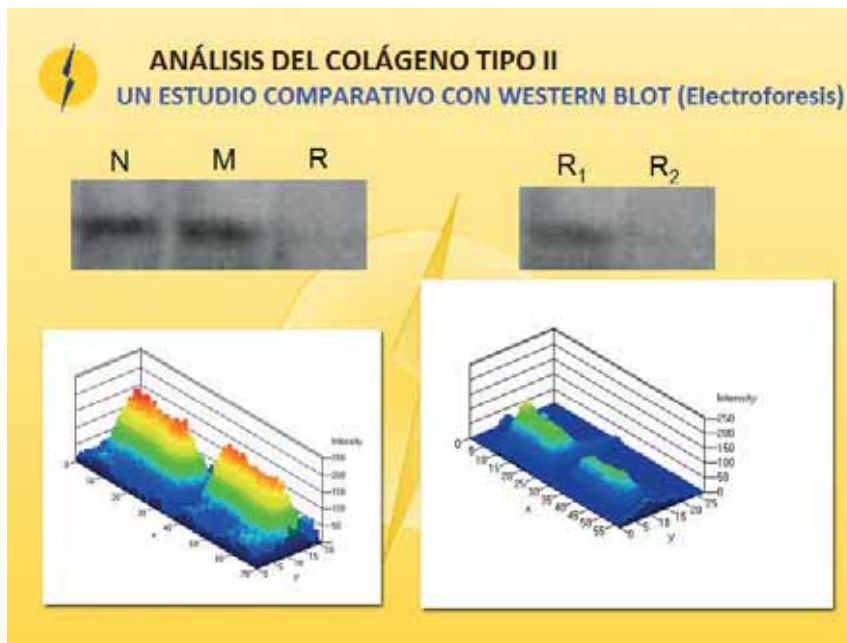


Figura 28

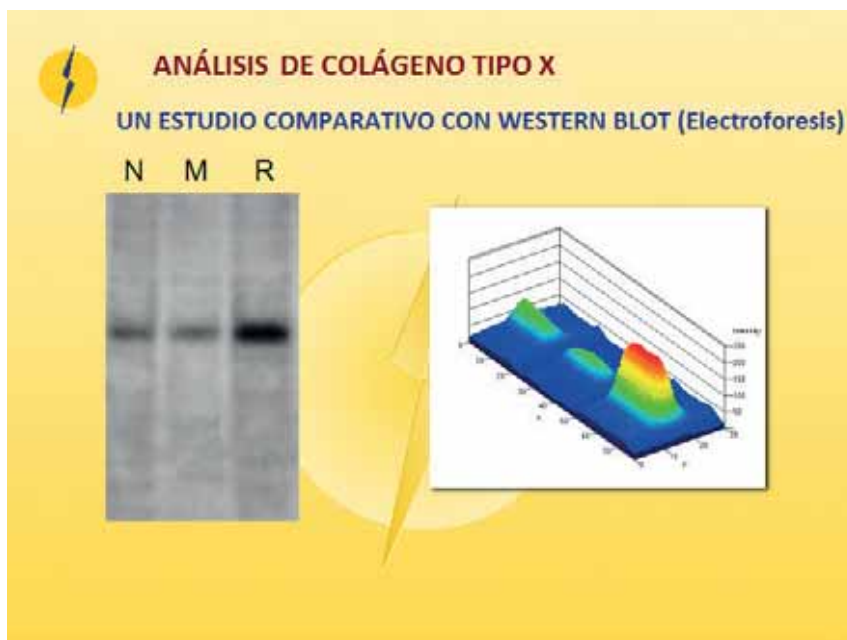


Figura 29

Un análisis de la presencia de receptor del factor de crecimiento fibroblástico 3 demostró cantidades normales de RFCF3 en los condrocitos del cartílago nativos sanos y en los condrocitos del cartílago MACI. Condrocitos regenerados mostraron sólo una pequeña cantidad de RFCF3 (30%). (Fig 30,31).

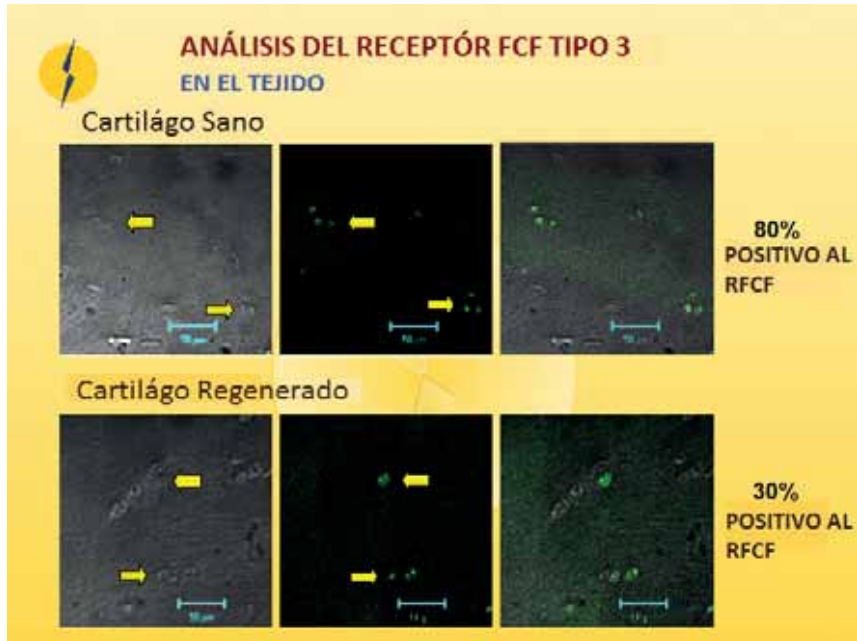


Figura 30

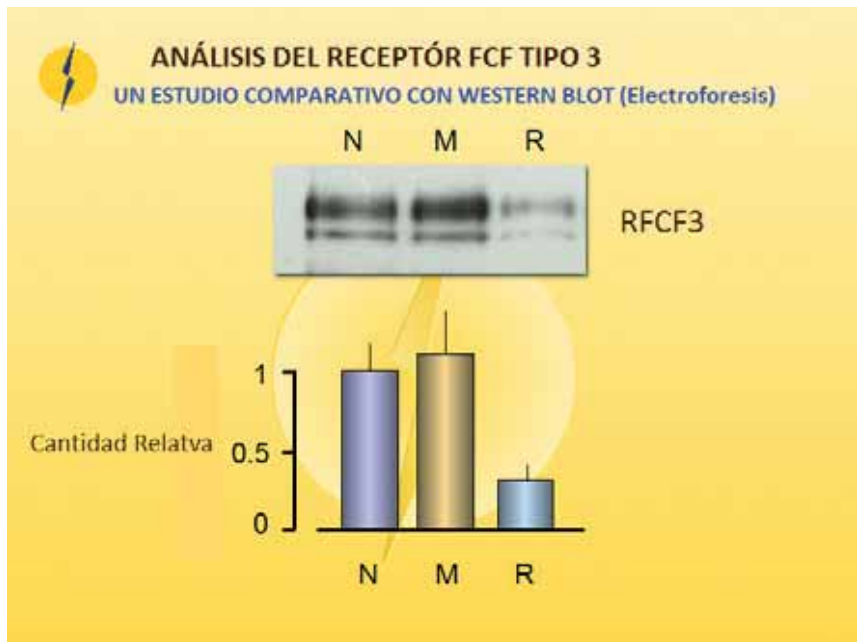


Figura 31

Este estudio mostró que el cartílago regenerado en comparación con el cartílago normal y con cartílago MACI tenía el 50% del número de células. Los condrocitos MACI en comparación con condrocitos normales presenta cantidades idénticas de receptor FCF3, niveles de colágeno tipo II, y niveles de colágeno tipo X. Los condrocitos del cartílago regeneradas producen menos colágeno de tipo II y más colágeno tipo X de los condrocitos normales o MACI. Los condrocitos del cartílago regenerados mostraron una falta de receptores de RFCF3 en comparación con los condrocitos normales o MACI (sólo 30% de las células tenían este receptor).

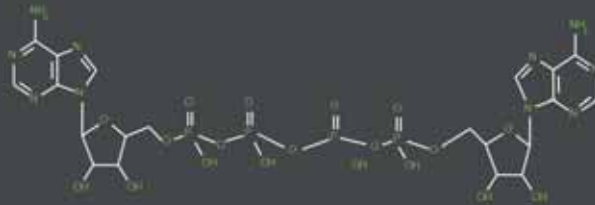
La relevancia clínica de este estudio es que de acuerdo con el doctor Arnold Caplan en el Congreso Mundial de la Sociedad Internacional de Reparación (Chicago, Il., EE.UU. mayo de 2015) la proporción de RFCR3 a RFCF 1 podría ser un importante factor determinante en la progresión de células progenitoras de condrocitos en la producción de cartílago articular en lugar de osificación endocondral.

¿CÓMO SE PUEDE POTENCIAR LA CAPACIDAD DE LOS CONDROCITOS CULTIVADOS?

En un intento de potenciar los condrocitos cultivados se han utilizado muchos factores de crecimiento, otros polipéptidos y proteínas de cadena. La experimentación con la adición de una molécula de dinucleótido (diadenosina tetrafosfato -ap₄D₂) al medio de cultivo mostró mejoras significativas en las características de crecimiento de los condrocitos cultivados. (Fig. 32) La diadenosina de tetrafosfato es una molécula que se encuentra en el líquido sinovial humano. (Fig. 33) El Ap₄D₂ favoreció la proliferación de condrocitos en casi un 30%. (Fig 35) El Ap₄D₂ favoreció la producción de matriz extracelular a casi el doble. (Fig. 34) El tejido tratado mostró más colágeno tipo II y menos colágeno de tipo X que el tejido no tratado. La adición de Ap₄D₂ redujo el número de receptores de RFCF3 en la membrana de condrocitos.

La experimentación con animales está actualmente en curso.

Molécula clave: Ap₄A



Dinucleótido Ap₂A

Figura 32

El Ap₄A está en el líquido sinovial

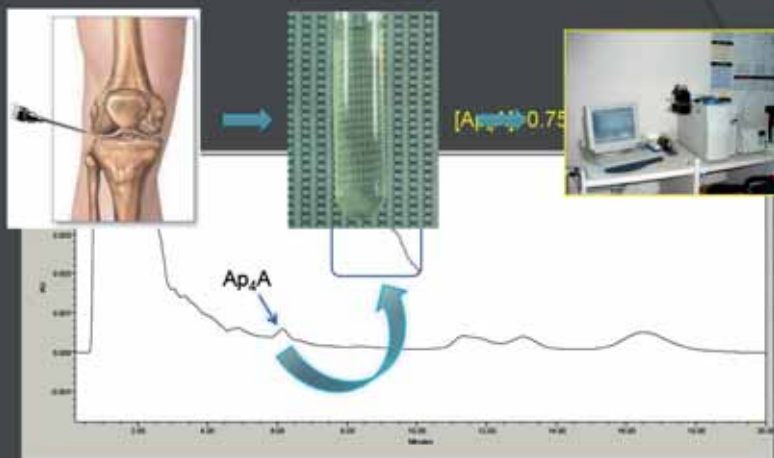


Figura 33

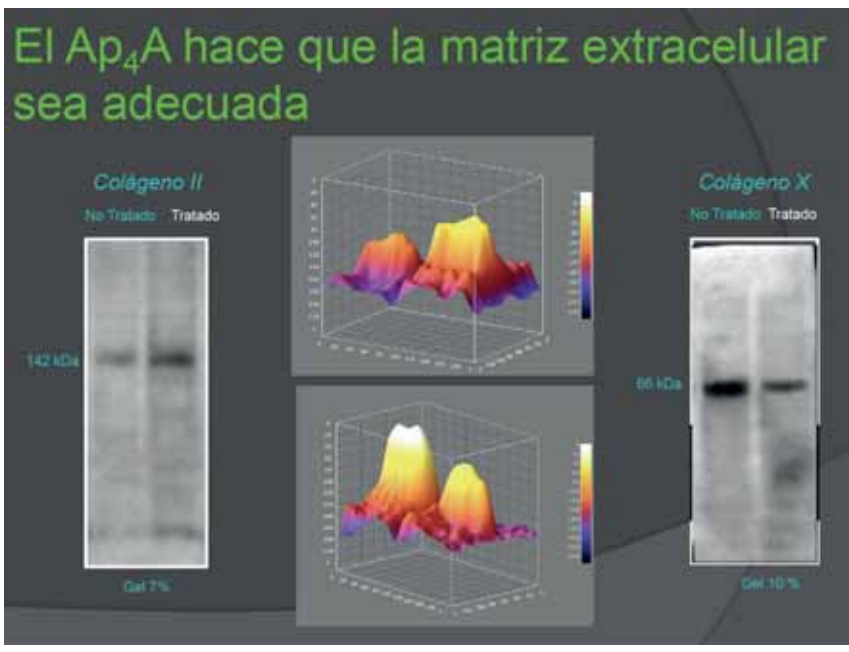


Figura 34

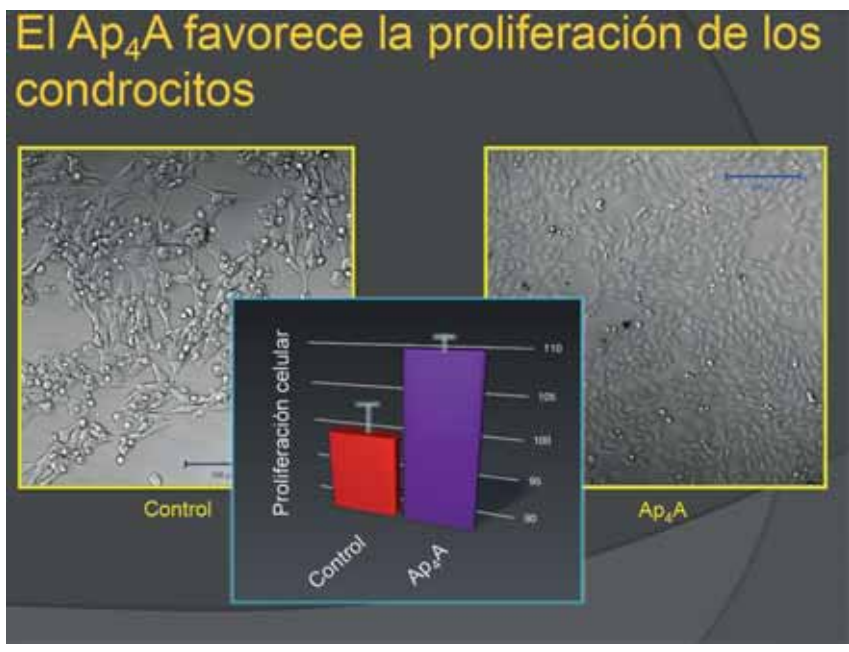


Figura 35

CELULAS MADRES PLURIPOTENTES INDUCIDAS (iPSC)

Las células madre pluripotentes inducidas (IPSC) son células madre de tipo "embrionario" que se desarrollan a partir de las células propias de una persona como la piel, la sangre, las MSC, etc.) (Fig 36,37) y re-inician o re-programan de estas células de diferenciarse en otros tipos de tejidos incluyendo condrocitos. Estas células madre embrionarias ", como" se desarrollan a través de la transducción de genes utilizando factores transcripción ESC-específica.¹⁷

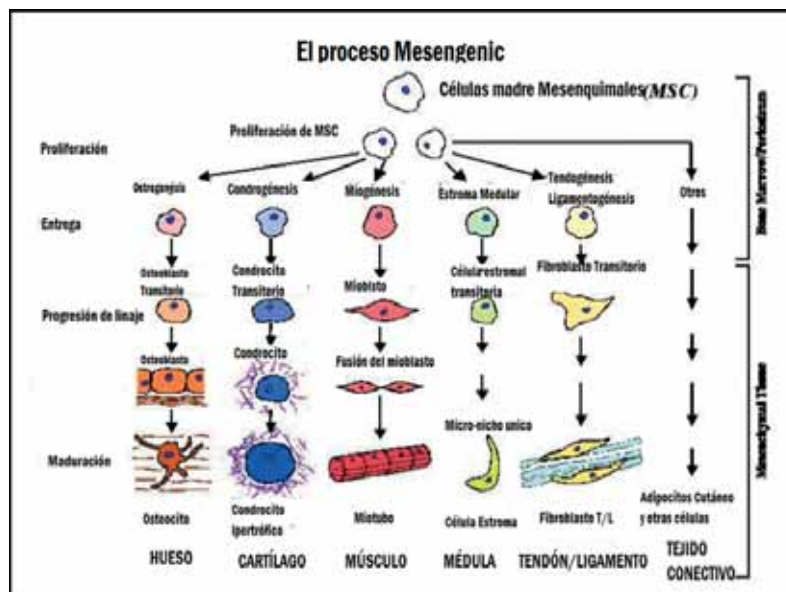


Figura 36

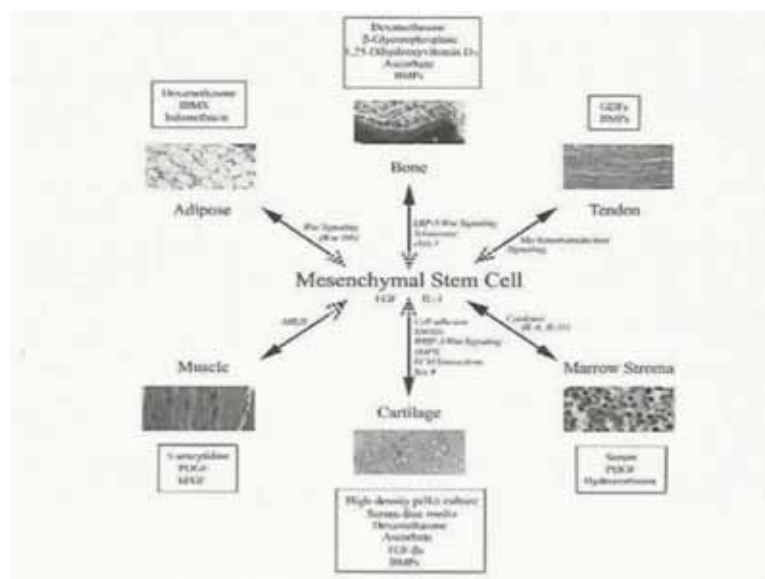


Figura 37

Yamanaka introdujo el concepto de células madre pluripotentes inducidas en 2006. Shinya Yamanaka y John Gurdon fueron ganadores del Premio Nobel de Medicina en 2012. (Fig. 38)

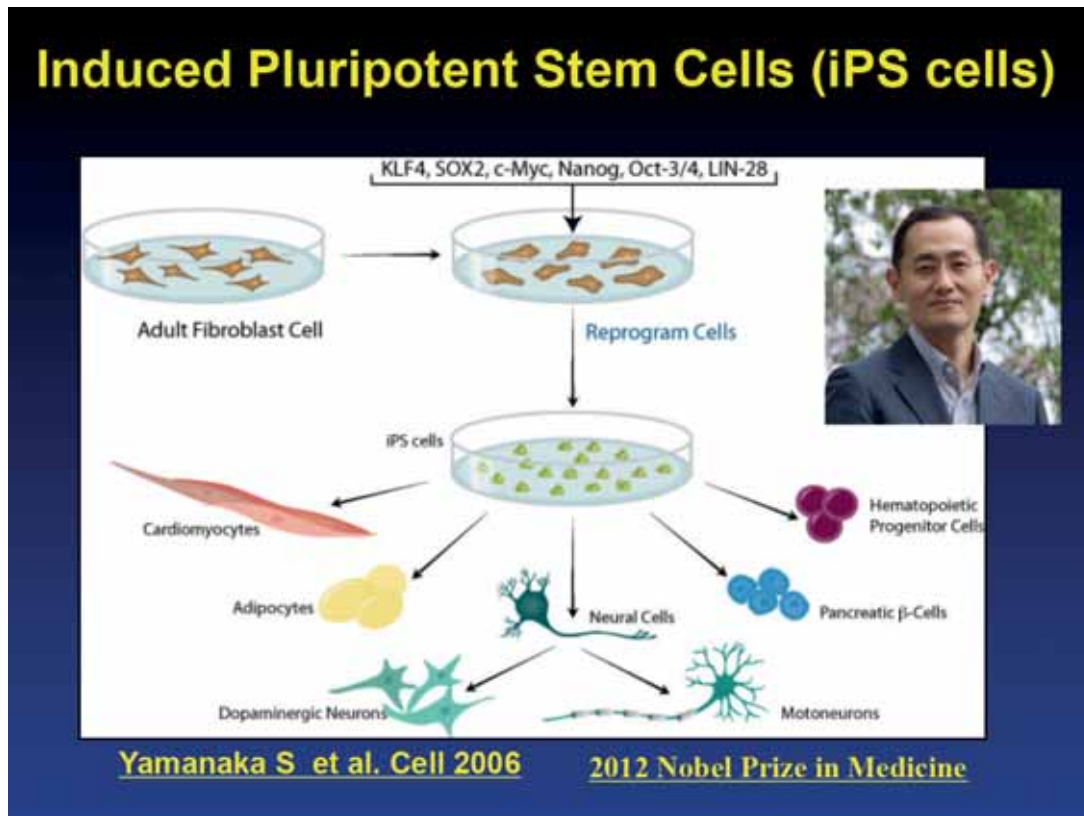


Figura 38

Estos iPSCs son células pluripotentes, como los CES y son autólogas en origen. El CMPI sería teóricamente capaz de auto-renovación indefinida. No debe haber preocupaciones éticas. Estos CMPI se podrían utilizar en múltiples aplicaciones de tejido, incluyendo la regeneración del cartílago.

Las preocupaciones de seguridad más relevantes con iPSCs serían que su naturaleza indiferenciada y tendencia a crecer sin restricciones podrían conducir al desarrollo de la formación de tumores o teratoma.

Un estudio realizado por la Universidad de Connecticut Stem Cell laboratorio en comparación condrocitos normales, condrocitos artrósicos, fibroblastos dérmicos (de la piel) y mononucleocitos de sangre de cordón en la formación de CMPi cartílago.

Su estudio demostró que iPSCs derivados de cualquiera de los condrocitos articulares normales o artrósicos poseen un mayor potencial de formación de condrocitos en comparación con las células iPS a partir de la piel o de la médula mononucleocitos sanguíneos. Sus datos mostraron que el tejido de origen afectado el potencial destino de CMPI para diferenciarse en condrocitos. Informaron que las CMPI derivadas de condrocitos articulares artrósicas muestran inducción similar de marcadores condrogénicas primeros en comparación con iPSCs de condrocitos normales

La Clinica Centro (Madrid, España) / UCAM (Murcia, España) colabora con el Instituto Salk de San Diego, California, EEUU y han comenzado ya a cultivar células madre mesenquimales transformadas o reprogramadas en condrocitos añadiendo TGF – beta.¹⁹ (Figs. 39 a 44)

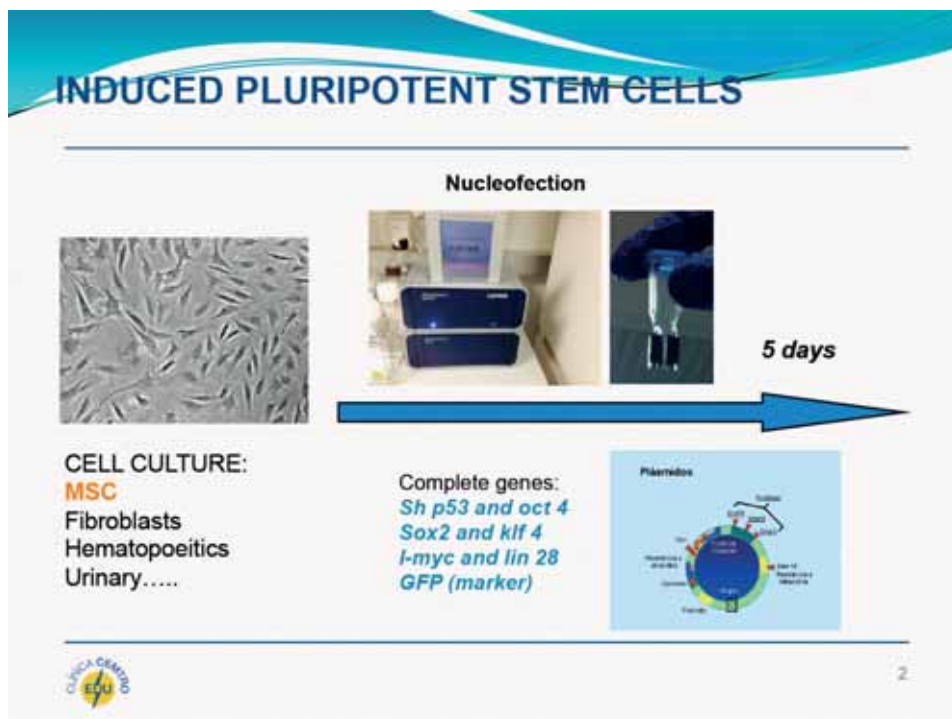


Figura 39

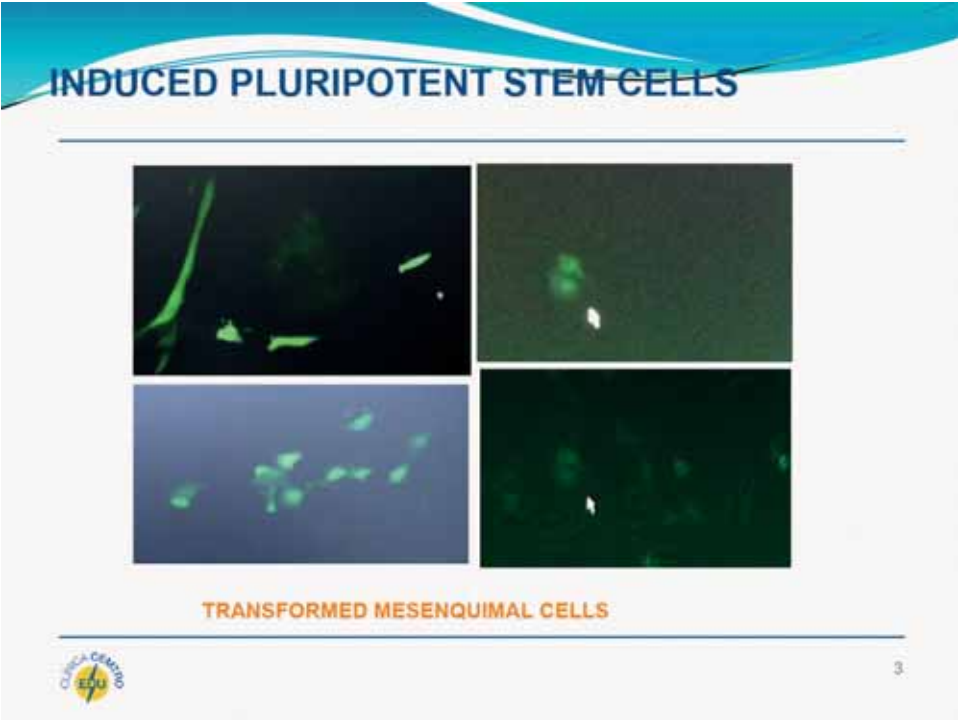


Figura 40

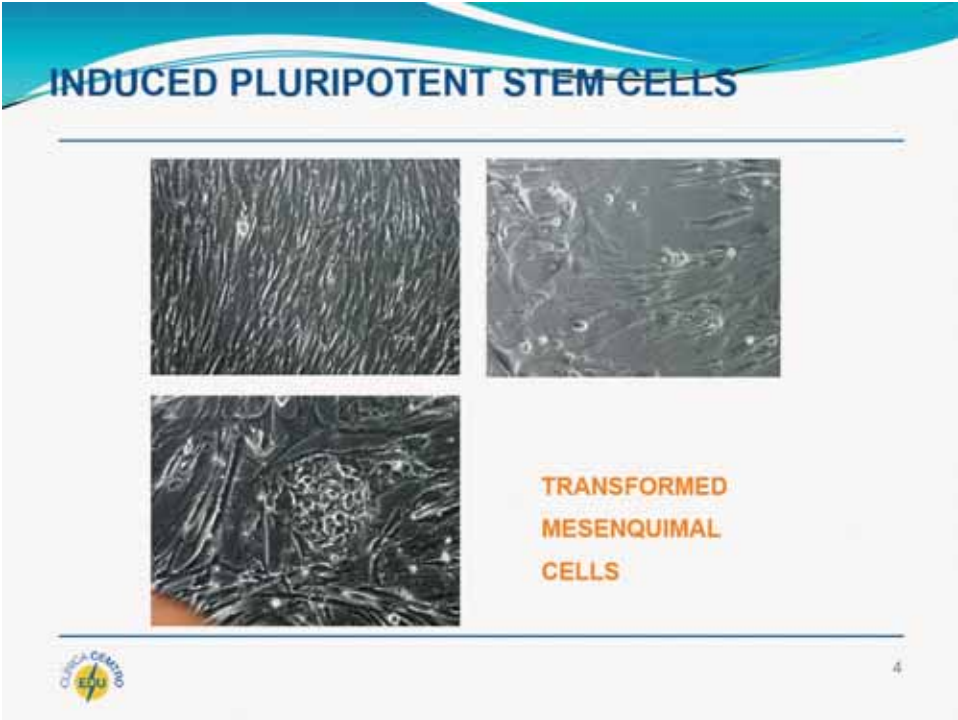

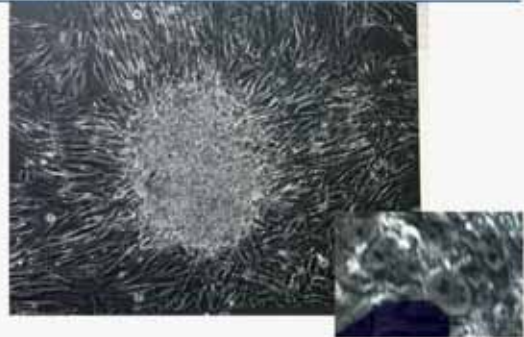


Figura 41

INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS





iPCS co-culture with embryonic mouse fibroblasts or onto artificial matrixes.
Subcultures of iPCS colonies Scratching - Picking




5


Figura 42

INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS


Diferentiation into different cell types- CHONDROCYTES




Chondrogenesis



Culture with TGF- β





Assays in animals






Figura 43

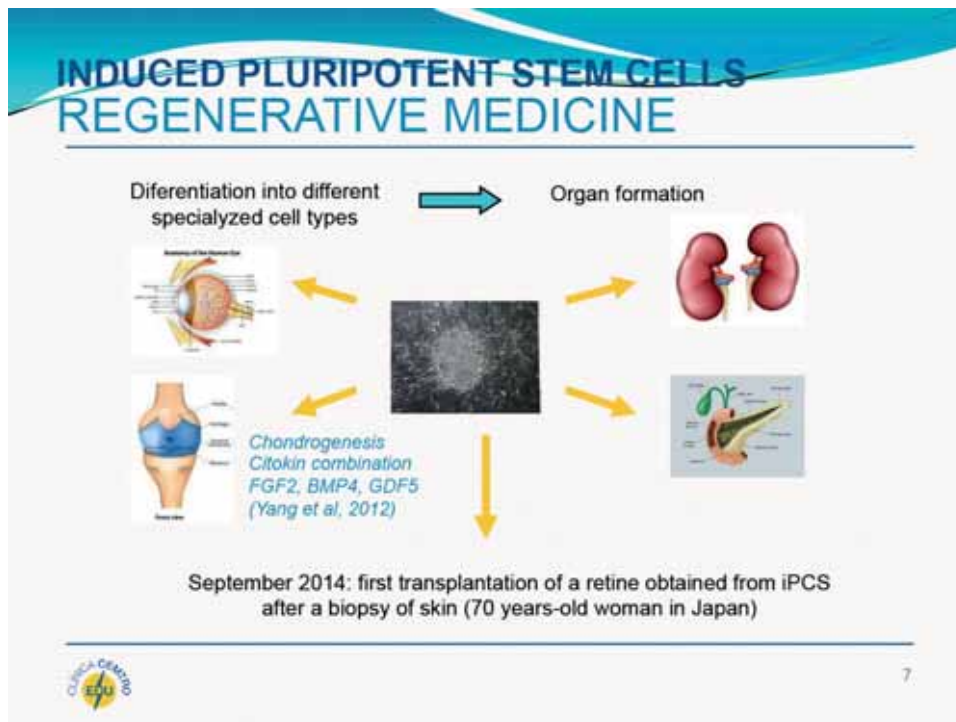


Figura 44

He dicho,

Gracias.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Miller, M., Thompson, S., Hart, J. : Joints. Review of Orthopaedics, Elsevier, 49, 2010.
- 2) Yiannakapoulous, C: Biomechanics of Articular Cartilage, Google.
- 3) Buckwalter, J., Mankin, H.: Articular cartilage: part b II: Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. J Bone Joint Surg Am 1997;79:612-632.
- 4) Guillen-Garcia, P., Rodriguez-inigo, E, Guillen-Vincente, I., Caballero-Santos, R., Guillen-Vicente, M., Abelow, S., Gimenez-Gallego, G., Lopez-Alcorocho, JM., Increasing The Dose of Autologous Chondrocytes Improves Articular cartilage Repair: Histological and Molecular Study in the Sheep Animal Model. Cartilage, April, 2014.
- 5) Goyal, D., Keyhani, S., Lee, EH., Hui, JH. Evidence-Based Status of Microfracture Technique: A Systematic Review of Level I and II Studies. Arthroscopy, 2013 Sep. 29(9): 1579-88.
- 6) Gracitilli, GC., Meric, G., Briggs, DT., McCauley, JC., Belloti JC., Bugbee, W., Fresh osteochondral allografts in the knee: Comparison of primary transplantation versus transplantation after failure of previous subchondral marrow stimulation. Am J Sports Med, April, 2015; 43(4): 885-91.
- 7) Bugbee, William, Personal communication, March, 2015.
- 8) Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, et al: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous cartilage transplantation. New England Journal of Medicine, 331: 889-895, 1994.
- 9) Peterson L: ACI surgical techniques and results at 2-10 years; in Basic science clinical repair and reconstruction of articular cartilage defects: Current status and prospects, Timeo Editore, Bologna, Italy, 325-332, 2006.

- 10) Peterson L, Minas T, Brittberg M, et al: Two to nine year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clinic Orthop.* 374; 212-234, 2000.
- 11) Steinwachs MR: ACI and resorbable collagen membrane: Chondro-Gide surgical technique and results, in *Basic science clinical repair and reconstruction of articular cartilage defects: Current status and prospects* Timeo Editore, Bologna 389-392, 2006.
- 12) Krueez, PC., Steinwachs, MR., Krause SJ., Erggelect, C., Lahm, A., Ossendorf, C., A comparison of autologous chondrocyte implantation using a collagen membrane versus a periosteal patch. 3 year results of 163 pages. ICRS, Gent, Belgium, 2004.
- 13) Abelow SP, Guillen P, Ramos T: Arthroscopic techniques for matrix-induced autologous chondrocyte implantation for treatment of large chondral defects in the knee and ankle, *Operative techniques in orthopaedics* 2006, 16, 4 257-261.
- 14) Abelow SP, Guillen P, Fernandez T, Guillen I: Autologous chondrocyte implantation for the treatment of large chondral defects in the knee and ankle, *Athroscopy Association of North America Annual Meeting*, Vancouver, B.C., 2005.
- 15) Abelow, SP., Guillen, P., Guillen, M., Guillen, I., *Osteochondral lesions of the talar dome: New horizons in cartilage replacement. AANA Advanced Arthroscopy, the foot and ankle.* Saunders, Elsevier, 2010.
- 16) Guillen, P., Abelow, S., Pintor, J., *Native cartilage, regenerated cartilage , and MACI: a comparative study*, International knee congress, Madrid, Spain, 2009
- 17) Tuan, RS., Chen, AF., Klatt, BA., *Cartilage Regeneration*, *J Am Acad Orthop Surg* 2013; 21:303-311.

18) Foldager, CB., Gomol AH., Spector, Lind, M.; Spector:cell seeding densities in autologous chondrocyte implantation techniques for cartilage repair. *Cartilage*.2012;3(2):108-17.

19) Lopez-Alcorocho, JM., Rodriguez, E, Guillen, I., Guillem, M., Caballero, R., Abelow, S., Gimenez-Gallego, G., Guillen, P., May, 2015. *Clinica CEMTRO*.