



Universidad de Jaén
Facultad de Ciencias de la Salud

Trabajo Fin de Grado

Terapia con de células madre adultas para la regeneración de tejido condral dañado.

Alumno: Fernández García, Estela

Tutor: Prof. D. Cobo Molinos, Jesús
Dpto: Ciencias de la Salud

ÍNDICE:

1. Resumen.....	4
2. Abstract.....	5
3. Introducción.....	6
3.1 El cartílago como tejido.....	6
3.1.1. Tipos de cartílago.....	7
3.1.2. Funciones del cartílago.....	8
3.1.3 Células que componen el cartílago, los condrocitos.....	8
3.2. Patología articular.....	8
3.3. Biología de las células madre.....	9
3.3.1. Características generales de las células madre.....	9
3.3.2 Tipos de células madre.....	9
4. Materiales y métodos.....	11
4.1. Estrategia de búsqueda.....	11
4.2. Criterios de inclusión.....	11
5. Resultados.....	12
6. Discusión.....	16
7. Conclusión.....	19
8. Tabla.....	20
9. Bibliografía.....	22

1. RESUMEN:

Introducción: En la actualidad, ciertas enfermedades de origen osteocondral como son la artritis reumatoide o la artrosis en ciertas articulaciones, son de gran importancia en la sociedad. El único vehículo para solucionar estos problemas es la cirugía. Existen otras estrategias para resolver estas patologías que pueden ser de interés, en concreto la posibilidad de diferenciar células madre mesenquimales a condrocitos viables que sirvan para repoblar las zonas de cartílago dañadas en estas articulaciones.

Material y métodos: La finalidad de esta revisión sistemática fue analizar la evidencia científica disponible para determinar la eficacia de la diferenciación de las células madre mesenquimales hacia condrocitos en enfermedades degenerativas de cartílago. Para ello se utilizó la base de datos PUBMED y se incluyeron ensayos clínicos aleatorizados, de no más de 10 años de antigüedad, realizados en humanos y que estuvieran disponibles a texto completo. Se encontraron un total de 451 artículos, de los cuáles siguiendo los criterios de elegibilidad, 11 forman parte de esta revisión.

Resultados: Se han encontrado un total de 11 artículos relacionados con el tema a tratar en este estudio. La osteoartritis es la patología más estudiada y la de nuestro interés, aunque hay que destacar que además de las estrategias de diferenciación celular, varios de los artículos encontrados estudian la eficacia de diferentes factores de crecimiento que favorecen la diferenciación celular.

Conclusiones: Todos los trabajos estudiados obtienen buenos resultados "in vitro" dando la posibilidad de diferenciar células madre adultas a condrocitos, pero todavía queda mucho por estudiar ya que los resultados "in vivo" en la actualidad son desfavorables en muchos casos.

Palabras clave: "diferenciación células madre cartílago", "células madre mesenquimales cartílago", "cultivo células madre cartílago".

2. ABSTRACT

Introduction: Presently, certain diseases are osteochondral origin such as rheumatoid arthritis or osteoarthritis in certain joints, are of great importance in society. The only vehicle to solve these problems is surgery. There are other strategies to resolve these pathologies that may be of interest, namely the possibility of differentiation mesenchymal stem cells to viable chondrocytes serve to repopulate the damaged areas of cartilage in these joints.

Methods: The purpose of this review was to examine the available scientific evidence to determine the effectiveness of the differentiation of mesenchymal stem cells into chondrocytes in cartilage degenerative diseases. For this, the PubMed database was used and no more than 10 years old, randomized clinical studies in humans and that were available were included in full text. A total of 451 items were found, of which the criteria for eligibility, 11 are part of this review.

Results: We found a total of 11 articles related to the topic to be included in this study. Osteoarthritis is the most studied and our interest pathology, although it is noted that besides cell differentiation strategies, several of the items found studying the efficacy of different growth factors that promote cell differentiation.

Conclusions: All studies do well results "in vitro" making it possible to differentiate adult stem cells into chondrocytes, but there is still much to study because the results "in vivo" today are unfavorable in many cases.

Keywords: "stem cells differentiation cartilage", "mesenchymal stem cells chondrocytes", "culture stem cell cartilage".

3. INTRODUCCIÓN:

En los últimos años ha existido un creciente interés por las células madre y su posible potencial terapéutico. Los resultados experimentales que se están obteniendo en este campo nos hacen pensar en una posible aplicación no muy lejana de estas técnicas para paliar determinadas enfermedades en el hombre.

En la actualidad, una de las fuentes más utilizadas para la obtención de células madre adultas es el estroma de la médula ósea, las células madre de sangre de cordón umbilical o incluso las que se encuentran en la sangre periférica, las cuales se pueden expandir in vitro con relativa facilidad y a la vez diferenciarse en múltiples tipos de células. Las células madre mesenquimales aisladas muestran multipotencialidad para diferenciarse en cultivo o tras su implante in vivo, en osteoblastos, condrocitos, adipocitos y mioblastos.

3. 1. EL CARTÍLAGO COMO TEJIDO:

El cartílago articular es un tejido único, cuyas funciones son la distribución de carga aplicada al hueso subyacente subcondral y proveer, con el fluido sinovial de un interfaz de fricción baja.

El tejido cartilaginoso, es una variedad de tejido conjuntivo, de consistencia sólida, bastante parecido al tejido óseo, pero no calcificado. Al no estar calcificada su matriz, presenta una consistencia menor que el tejido óseo.

3.1.1. TIPOS DE CARTÍLAGO.

Existen varios tipos de tejido cartilaginoso, el hialino, el fibroso, y el elástico, cada uno con una función y características diferentes (Tuan *et al.* 2006).

- Cartílago hialino:

Es el más extendido en el organismo, presenta un aspecto opalescente, semitransparente y lechoso. Se encuentra en cartílagos articulares, costales, en nariz, laringe, traquea y bronquios.

También es el cartílago a partir del cual se formará el tejido óseo endocondral que se puede encontrar en el feto y en la placa de crecimiento de los huesos largos.

- Cartílago fibroso:

Es el que presenta, dentro de los diferentes tipos de cartílago, una mayor cantidad de fibras colágenas, por lo que lo hace un tipo de cartílago más fuerte y de mayor resistencia mecánica que el anterior. Se encuentra principalmente en los discos intervertebrales, sínfisis del pubis y en el menisco de las rodillas.

-Cartílago elástico:

Una característica de este tipo de tejido, es su pigmentación amarillenta, y su alta flexibilidad y elasticidad. Se puede localizar en el pabellón auditivo, conducto auditivo externo, epiglotis, trompa de Eustaquio y laringe (Stevens *et al.* 2006).

3.1.2. FUNCIÓN DEL CARTÍLAGO

Como ya se mencionó anteriormente, la función del tejido cartilaginoso, es principalmente distribuir de carga aplicada en la zona ósea y proveer de una baja fricción entre las superficies de la unión del hueso.

No obstante podemos clasificar la función de este tejido en tres puntos clave para la ayuda de la movilidad:

- Mejora la congruencia y aumenta la superficie articular, lo que permite aumentar el área de contacto y disminuye la presión por unidad de superficie.

- La consistencia viscoelástica del tejido cartilaginoso, le permite absorber las cargas que soporta el cuerpo, así como amortiguar golpes.

- Una de las funciones más importantes durante el crecimiento, es la función que ejerce sobre la placa de crecimiento, ya que es la responsable del crecimiento de los huesos largos (Munuera. 1996).

3.1.3. CÉLULAS QUE COMPONEN EL CARTÍLAGO, LOS CONDROCITOS.

Las células que forman el tejido cartilaginoso son denominadas condrocitos, estos tienen diferentes formas y tamaños y una serie de filamentos que unen las células entre sí con la matriz, sirviéndose de sensores de los cambios mecánicos de la matriz.

Como estructura celular, se puede observar que los condrocitos activos contienen retículo endoplásmico rugoso abundante y complejo de Golgi bien desarrollado. El núcleo de estas células es redondeado u oval y contiene de uno a varios nucléolos.

Ocupan cavidades o lagunas, llamadas condroplastos. Los condrocitos presentan prolongaciones que le dan un aspecto estrellado pero sin embargo, normalmente, las células llenan los condroplastos y se conectan directamente con la matriz cartilaginosa, en consecuencia, su forma es semejante a una laguna.

La imagen que se puede observar con microscopía óptica obedece a la desigual retracción que sufren ambos componentes del cartílago durante su procesamiento. Los condrocitos generalmente se disponen en grupos que corresponden a una familia celular que los origina (Junquera *et al.* 1996).

3.2. PATOLOGÍA ARTICULAR.

El principal problema para la reparación de tejido articular dañado es, sin duda, la falta de vascularización del tejido. Dentro de la traumatología, es común tratar a pacientes con problemas de cartílago, como cartílago dañado por un trauma, osteocondritis disecante, osteoartritis o artritis reumatoide. Sin embargo, es siempre difícil de tratar correctamente a estos pacientes que tienen dañado el cartílago, ya que el cartílago articular por sí solo, no tiene la capacidad de autorepararse correctamente (Swieszkowski *et al.* 2007).

Así mismo, los condrocitos se encuentran rodeados por esta matriz densa extracelular por lo que el mecanismo de cicatrización habitual es la infiltración de células o la migración de células. Cuando el cartílago se encuentra dañado, esta reparación no se lleva a cabo, por lo que, no sólo puede que el cartílago dañado no sea reparado, sino que la herida causada en el cartílago, gradualmente, se deteriore causando lesiones de cartílago que degeneren en lesiones de tejidos adyacentes. El daño en el cartílago puede desembocar en una osteoartritis severa que puede causar la disfunción grave (Mitsuo *et al.* 2004).

Aunque existen tratamientos médicos para tratar daños en el cartílago, ningún tratamiento ha podido mantener o desarrollar cartílago hialino duradero.

Recientemente, se ha abierto un nuevo campo en el tratamiento de las lesiones de cartílago a través de la aplicación de la medicina regenerativa. Esto abre una gran puerta para la medicina, principalmente en el campo ortopédico.

La Medicina regenerativa trata de utilizar nuevos mecanismos para la reparación o reemplazo de la zona dañada o del tejido enfermo. En la actualidad se usa para la regeneración, células de cartílago del propio sujeto, pero una de las principales cuestiones que limitan su empleo clínicamente es la dificultad para obtener cantidades suficientes de células de tejido comparable a cartílago vivo compatible para el paciente. Una opción posible es usar células de madre mesenquimales (Ahmed *et al.* 2007).

3.3. BIOLOGÍA DE LAS CÉLULAS MADRE

3.3.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS CÉLULAS MADRE.

La pluripotencialidad de las células madre en general, implica la posibilidad de regenerar tejidos del mesoderma, endoderma y ectoderma por igual. Estas células son inductoras de diferenciación a hueso, cartílago, músculo, neuronas, grasa, etc. en medios de cultivo con factores de crecimiento adecuados (Gamradt *et al.* 2004).

3.3.2. Tipos de células madre.

La potencialidad representa la capacidad y posibilidades de diferenciación de las células, y se manifiesta en el ámbito natural de acuerdo con el orden jerárquico de su desarrollo. De acuerdo con su potencial de diferenciación, las células madres se han clasificado en: totipotentes, pluripotentes y multipotentes.

Existen dos tipos de células madre:

- **Las embrionarias**, cuyo origen es el embrión en estadios iniciales del desarrollo (mórula).
- **Las adultas**, tomadas de tejidos ya desarrollados en un individuo, como la médula ósea.

Tradicionalmente se han considerado a las células madre embrionarias como células pluripotenciales o totipotentes, es decir, que se pueden diferenciar a cualquier tipo de célula, mientras que las células madre adultas sólo son multipotenciales, o sea, se pueden convertir únicamente en algunos tipos celulares (Kraus *et al.* 2006).

La célula progenitora o precursora puede considerarse una célula que ya ha alcanzado una diferenciación parcial y ha perdido la capacidad pluripotencial de la célula madre. Además, en su progresión evolutiva, puede comprometerse con un determinado linaje celular y dar lugar a células especializadas específicas.

De esta forma, el tejido determinado dará células específicas que producirán a su vez un linaje celular específico (Tabla 1).

Tabla 1 (Tuan R.S. 2003)	
Fuente de MSCs hacia tejidos del sistema musculoesqueletico.	
Tejido fuente	Multilinaje (células a las que se puede diferenciar)
Medula ósea	Adipocitos, cardioniocitos, condrocitos, células Muscular, osteoblastos, varios tipos de tejidos embrionarios.
Hueso trabecular	Adipocitos, condrocitos, osteoblastos.
Sangre periférica	Adipocitos, fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos.
Membrana sinovial	Adipocitos, condrocitos, células musculares, osteoblastos.
Dermis	Adipocitos, condrocitos, célula muscular, osteoblastos.
Periostio	Condrocitos, osteoblastos

4. MATERIALES Y MÉTODOS:

4.1. Estrategia de búsqueda:

Durante el mes de Marzo de 2015 se realizó una búsqueda y revisión de artículos científicos en las bases de datos PUBMED, PeDro y Cochrane. Los descriptores empleados fueron "stem cells differentiation cartilage", "mesenchymal stem cells chondrocytes", "culture stem cell cartilage".

4.2. Criterios de inclusión:

Los artículos que forman parte de esta revisión deben cumplir las siguientes características:

- Tipo de estudio: ensayos clínicos aleatorizados (ECAs)
- Periodo de publicación: estudios publicados en los últimos 10 años
- Tipo de intervención: Terapias con células madre mesenquimales en procesos degenerativos de hueso y cartílago.
- Acceso a texto completo de los artículos para su análisis.

4.3. Criterios de exclusión:

Quedaron excluidos los artículos que no se centran en la utilización de células madre mesenquimales, eliminando los que usaban células madre embrionarias para sus trabajos, así como los anteriores a 2005 y los no disponibles a texto completo.

También excluimos los trabajos que no estuvieran publicados en inglés o español como primera lengua.

5. RESULTADOS:

Durante la búsqueda bibliográfica se encontraron un total de 451 artículos en PUBMED, de los cuales quedaron 42 al no coincidir con los criterios de búsqueda. Tras profundizar en los artículos y aplicar los criterios de exclusión, finalmente se incluyeron 11 artículos (tabla 2).

Scharsthul et al. 2007, analizan si la disponibilidad y la capacidad de diferenciación condrogénica de las células madre mesenquimales es dependiente de la edad o de ciertas patologías como es el caso de la osteoartritis. Para ello, aislaron células madre mesenquimales de la médula ósea de la diáfisis del fémur de 98 pacientes, usando cultivo micromass y analizado por reacción transcriptasa- polimerasa cuantitativa. Tras el análisis, se concluyó que es independiente la edad o la osteoartritis de la diferenciación y disponibilidad de células madre mesenquimales, por lo tanto, una aplicación terapéutica de células madre mesenquimales en las lesiones del cartílago parece factible.

kurth et al. 2007, el objetivo de este estudio fue establecer las condiciones bajo las cuales las células madre mesenquimales derivadas de donantes humanos pueden ser inducidas a la diferenciación condrogénica utilizando el sistema alginato. Las células madre se obtuvieron de las membranas sinoviales de rodilla de pacientes con artrosis, y se sembraron en cultivos monolayer (en monocapa), y se determinó cuantitativamente por la reacción en cadena de la polimerasa. Se demostró que las células madre mesenquimales derivadas de membranas sinoviales de pacientes con artrosis tienen potencial condrogénico y que BMP-2 Y BMP-7 fueron los inductores más potentes para la diferenciación.

Chen et al. 2009, este estudio se realizó para establecer un modelo de diferenciación de células madre mesenquimales a condrocitos *in vitro*, para así poder aplicarlo posteriormente *in vivo*. Se utilizó un sistema de pre-acondicionamiento de co-cultivo (cultivar ambos tipos celulares juntos) para mejorar el potencial condrogénico de las células madre mesenquimales y estudiar las etapas detalladas de la condrogenesis, utilizando Kp-hMSC como factor de crecimiento. El resultado fue que hubo un aumento en la expresión condrogénica. Se estableció un modelo detallado de las etapas de la diferenciación condrogénica, lo que supone un avance en el trasplante *in vivo* en el futuro.

Van Buul et al. 2012, se estudia los efectos antiinflamatorios de las células madre mesenquimales en pacientes con osteoartritis. Se realizó un cultivo en un medio preparado con células madre mesenquimales y estimulado por TNF-alfa. Los resultados demostraron que en un ambiente inflamatorio, las células madre mesenquimales secretan factores que causan múltiples efectos antiinflamatorios e influye en la regeneración del cartílago de la membrana sinovial. Estos resultados fomentan el estudio adicional de células madre mesenquimales como tratamiento de las enfermedades de las articulaciones.

Aung et al. 2011, este estudio determinó los efectos de los signos morfogenéticos del cartílago con osteoartritis sobre la diferenciación de las células madre mesenquimales. Se utilizó inmunofluorescencia y espectrometría de masas para identificar factores solubles. El análisis numérico determinó que los signos morfogenéticos juegan papel crucial en la diferenciación condrogénica, por lo tanto, podría ser importante utilizar células madre mesenquimales como prevención en la degeneración del cartílago.

Sampaio de Mara et al. 2011, en este estudio se analizó la condrogenesis empleando células madre mesenquimales de periostio de donantes humanos. Las células madre se dividieron en cuatro grupos. En dos grupos se estimuló la transformación con TGF- B3, de los cuales un grupo se cultivó en cultivos monocapa y otro grupo en cultivos micromass. Los dos grupos restantes se dividieron en cultivos monocapa o micromass pero no se estimularon con TGF-B3. La diferenciación se verificó a través de la reacción transcriptasa-polimerasa cuantitativa. Los resultados de este estudio demuestran que las interacciones entre células en cultivo micromass puede regular la proliferación y diferenciación de las células madre mesenquimales de periostio hacia condrocitos y todo esto se ve reforzado por TGF-B3.

Suzuki et al. 2012, se analizó el potencial condrogénico de las células madre mesenquimales *in vitro* con donantes humanos e *in vivo* en conejos, analizados usando microarrays y reacción transcriptasa-polimerasa cuantitativa. En los estudios *in vitro* se observó mayor cantidad de síntesis de matriz de cartílago y agregados de células madre mesenquimales y también se encontró factores antiinflamatorios. En los estudios *in vivo* en conejos, se observó que en baja densidad las células madre se adherían fácilmente a los defectos del cartílago y permanecían sin ninguna pérdida, obteniéndose con éxito la regeneración de cartílago en animales. Contrariamente, la implantación de células madre

mesenquimales en alta densidad no logró la regeneración de cartílago debido a la muerte celular y a la privación de nutrientes por parte de los agregados de las células madre mesenquimales. Por ello, se llegó a la conclusión de que la implantación de células madre mesenquimales es una fuente muy útil en la regeneración de cartílago.

Fernandes et al. 2013, se estudió si los condrocitos derivados de donantes sanos pueden ayudar a la regeneración del cartílago en pacientes con osteoartritis. Para evaluar se empleó la reacción transcriptasa-polimerasa cuantitativa e inmunohistoquímica de fluorescencia. Se encontró gran cantidad de condrocitos y colágeno tipo I y II. Por lo que se llegó a la conclusión de que los condrocitos son adecuados para la regeneración de cartílago en pacientes con osteoartritis.

Yang et al. 2012, este estudio investigó el efecto del factor de crecimiento TGF-B y b-catenina durante la diferenciación condrogénica por células madre mesenquimales. Se estudiaron diferentes medios, los cuales contenían: TGF- B solo, TGF-B con b- catenina transitoria o TGF-B con b- catenina continua. Después de la diferenciación fue trasplantada en ratones. Los resultados sugirieron que la co-activación temporal con b-catenina puede producir cartílago de diferente fenotipo, y tiene aplicaciones potenciales en la regeneración de cartílago.

Zheng et al. 2008, el objetivo de este estudio fue comparar los efectos de las células madre mesenquimales extraídas de médula ósea con condrocitos diferenciados de células madre mesenquimales sobre las células T específicas en colágeno tipo II en artritis reumatoide para evaluar el potencial terapéutico de las células madre mesenquimales en el tratamiento de artritis reumatoide. El aislamiento de células madre mesenquimales fue de cinco pacientes sanos de entre 20 y 35 años. Se seleccionaron 37 pacientes con artritis reumatoide. La técnica utilizada para evaluar la inhibición de las células T fue tiñendo el marcador CD3 con Anexina V. Se determinó que tanto las células madre mesenquimales como los condrocitos diferenciados suprimieron las respuestas de las células T en la artritis reumatoide. Por lo que las células madre mesenquimales son un potencial candidato para la artritis reumatoide en el futuro, sobre todo si se confirma "*in vivo*".

Moioli and Mao. 2006, este estudio buscó la diferenciación de células madre mesenquimales hacia condrocitos *in situ* inducida por el factor de crecimiento TGF-B3 mediante geles termosensibles. Las células madre mesenquimales se aislaron de médula de médula ósea de donantes sanos, se hicieron dos grupos, las células madre de los dos grupos fueron cultivadas en gel de quitosan a una temperatura de 37º, a uno de ellos se le añadió TGF-B3. Se observó que en el grupo que no tenía TGF-B3 hubo un menor número de condrocitos y se diferenciaban con menor rapidez. Los efectos de TGF-B3 se determinó mediante cultivo monolayer o monocapa. Se pudo observar que hubo mayor diferenciación y se disminuye el tiempo de diferenciación de células madre mesenquimales hacia condrocitos. Por lo que llegaron a la conclusión de que se puede aislar células madre mesenquimales de la médula ósea del propio paciente y mediante un proceso corto en el laboratorio poder inyectarle condrocitos diferenciados y así reparar el cartílago dañado.

6. DISCUSIÓN:

Debemos hacer un estudio completo de cada una de las variables y elementos que conforman cada uno de los estudios para poder comprender y analizar este complejo tema, hay muchos elementos en común en los artículos, pero quizás, el principal es que todos buscan una alternativa a las terapias invasivas en las enfermedades degenerativas del cartílago. En la actualidad existen multitud de estrategias para conseguir diferenciar células madre a tejido condral, y todas ellas son muy factibles para poder, en un futuro, regenerar zonas osteocondrales dañadas.

En cuanto a las variables estudiadas en los artículos cabe destacar la coincidencia de utilización de factores de crecimiento para acelerar el proceso de diferenciación de las células madre hacia condrocitos. El estudio de dicha diferenciación serviría para atajar enfermedades como la osteoartritis.

Uso de factores de crecimiento:

Todos los estudios que utilizaron factores de crecimiento ya sean **kp-hMsc**, TGF-B3, TNF- alfa, TGF-1 o b- catenina, obtuvieron resultados positivos y observaron que acelera el proceso de diferenciación. Hay que destacar que en la actualidad muchos de estos factores de crecimiento ya se usan en clínica.

- En el cultivo de condrocitos inducido por **kp-hMsc** se encontró un aumento en la expresión genética y acumulación de matriz condrogénica. (Chen *et al.* 2009)

- En un cultivo preparado con células madre mesenquimales y estimulado por **TNF- alfa**, se encontraron numerosos factores con múltiples efectos antiinflamatorios en la regeneración del cartílago de la membrana sinovial. (Van Buul *et al.* 2012)

- Se observó que hubo una mayor diferenciación y disminuyó el tiempo de diferenciación de las células madre mesenquimales hacia condrocitos en los cultivos con **TGF-B3**. (Moioli and Mao. 2006)

- Las interacciones entre células en cultivo micromass puede regular la proliferación y diferenciación de las células madre mesenquimales de periostio hacia condrocitos y todo esto se ve reforzado por **TGF-B3**. (Sampaio de Mara *et al.* 2011)

- Los resultados sugirieron que la co-activación temporal con **b-catenina** puede producir cartílago de diferente fenotipo, y tiene aplicaciones potenciales en la regeneración de cartílago. (Yang *et al.* 2012)

Efectos sobre la osteoartritis:

La osteoartritis es la enfermedad reumatológica más común. Afecta a un 70% de la población mayores de 65 años. Su etiología es desconocida, pero pueden influir múltiples factores como la obesidad, la edad, antecedentes de traumatismo articular, etc... (Scharstul *et al.* 2007)

Sharstul *et al.* 2007, Aung *et al.* 2011, Van Buul *et al.* 2012 y Fernandes *et al.* 2013, analizaron si las células madre mesenquimales diferenciadas a condrocitos podrían reparar el cartílago dañado y así evitar los tratamientos invasivos que hasta ahora se han utilizado, en los que la intervención quirúrgica es inevitable y existen unas repercusiones muy importantes en el paciente como largos periodos de recuperación, morbilidad y en muchas ocasiones rechazo de la prótesis implantada.

Todos los autores están de acuerdo en que la utilización de células madre mesenquimales en osteoartritis consigue reparar el cartílago dañado e incluso se segregan factores antiinflamatorios que ayudan a una pronta recuperación del paciente con el consiguiente beneficio del paciente. Podemos admitir pues que esta sería la medicina del futuro.

Factores de diferenciación

Van Buul et al. 2012 y Zheng et al. 2008, utilizaron factores de diferenciación IFN y TNF para favorecer la diferenciación de las células madre mesenquimales a condrocitos. En ambos estudios se produce una aceleración de la diferenciación así como un mayor número de condrocitos viables. Las células madre diferenciadas se ha demostrado que son más resistentes que los propios condrocitos y que poseen un mayor proceso de desarrollo pudiendo llegar a regenerar la zona dañada a tratar.

Suzuki et al. 2012, utilizaron métodos diferentes, por un lado demostraron que es posible la diferenciación de células madre mesenquimales a condrocitos y que estos pueden reparar las lesiones del cartílago "*in vitro*" con células madre de donantes humanos. Pero también sus resultados fueron positivos cuando se implantaron estas células madre diferenciadas, en rodillas de conejo, estudio "*in vivo*", observando que se adherían con facilidad a los defectos o daños del cartílago y permanecían sin ninguna pérdida. Este gran resultado en animales sería necesario extrapolarlo a humanos. Se conoce que la adherencia de estas células no posee los mismos resultados *in vivo* en animales como en humanos, por lo que sería necesario un ensayo clínico en pacientes.

7. CONCLUSIÓN:

En base a los artículos analizados, esta revisión de la literatura sugiere que las estrategias de diferenciación de células madre mesenquimales a condrocitos son efectivas en el tratamiento de las enfermedades degenerativas de cartílago. Todos los artículos demuestran que es una terapia prometedora para la medicina futuro y que sustituirá a las terapias invasivas actuales como la cirugía protésica.

Pero existe una limitación en todos los artículos, todos los experimentos han sido realizados "*in vitro*", solo uno, Suzuki et al, lo hizo "*in vivo*" en animales de laboratorio, observando que las células madre mesenquimales se diferenciaban a condrocitos y que se adherían a los defectos del cartílago.

Por esto, sería necesario y así lo hacemos saber en este estudio, que habría que realizar más estudios "*in vivo*" tanto en animales de laboratorio como posibles ensayos clínicos en pacientes. Estos tratamientos serían rápidos, no requerirían rehabilitación, evitaríamos dolor postoperatorio y por supuesto no existiría intervención quirúrgica abierta ya que se podría realizar por medio de artroscopia.

Tabla 2. Cuadro resumen de los resultados de los estudios elegidos

ESTUDIO	OBJETIVO	PARTICIPANTES E INTERVENCIÓN	TÉCNICA	CONCLUSIÓN
Scharsthul <i>et al</i> 2007	Estudian si la disponibilidad y la capacidad de diferenciación condrogénica de las células madre mesenquimales es dependiente de la edad o de ciertas patologías como es el caso de la osteoartritis.	Se aislaron células madre mesenquimales de médula ósea de la diáfisis del fémur de 98 pacientes	Cultivo micromass y analizado por reacción transcriptasa-polimerasa cuantitativa.	Se concluyó que es independiente la edad o la osteoartritis de la diferenciación y disponibilidad de células madre mesenquimales, por lo tanto, una aplicación terapéutica de células madre mesenquimales en las lesiones del cartílago parece factible.
Kurth <i>et al</i> 2007	Establecer las condiciones bajo las cuales las células madre mesenquimales derivadas de donantes humanos pueden ser inducidas a la diferenciación condrogénica utilizando el sistema alginato	Las células madre se obtuvieron de las membranas sinoviales de rodilla de pacientes con artrosis	Se sembraron en cultivos monolayer (en monocapa), y se determinó cuantitativamente por la reacción en cadena de la polimerasa	Se demostró que las células madre mesenquimales derivadas de membranas sinoviales de pacientes con artrosis tienen potencial condrogénico y que BMP-2 Y BMP-7 fueron los inductores más potentes para la diferenciación
Chen <i>et al</i> 2009	Establecer un modelo de diferenciación de células madre mesenquimales a condrocitos <i>in vitro</i> , para así poder aplicarlo posteriormente <i>in vivo</i>	Muestras de donantes	Se utilizo un sistema de pre-acondicionamiento de co-cultivo (cultivar ambos tipos celulares juntos)	El resultado fue que hubo un aumento en la expresión condrogénica. Se estableció un modelo detallado de las etapas de la diferenciación condrogénica, lo que supone un avance en el trasplante <i>in vivo</i> en el futuro.
Van Buul <i>et al</i> 2012	Se estudia los efectos antiinflamatorios de las células madre mesenquimales en pacientes con osteoartritis	Muestras de donantes	Se realizó un cultivo en un medio preparado con células madre mesenquimales y estimulado por TNF-alfa	Los resultados demostraron que en un ambiente inflamatorio, las células madre mesenquimales secretan factores que causan múltiples efectos antiinflamatorios e influye en la regeneración del cartílago de la membrana sinovial.
Sampaio de Mara <i>et al</i> 2011	Se analizó la condrogenesis empleando células madre mesenquimales de periostio de donantes humanos.	Periostio de donantes humanos	Cultivos monocapa y cultivos micromass. Se verificó a través de la reacción transcriptasa-polimerasa cuantitativa.	Los resultados de este estudio demuestran que las interacciones entre células en cultivo micromass puede regular la proliferación y diferenciación de las células madre mesenquimales de periostio hacia condrocitos y todo esto se ve reforzado por TGF-B3.

Aung <i>et al</i> 2011	Determinar los efectos de los signos morfogénicos del cartílago con osteoartritis sobre la diferenciación de las células madre mesenquimales.	Muestras de donantes	Se utilizó inmunofluorescencia y espectrometría de masas para identificar factores solubles.	El análisis numérico determino que los signos morfogénicos juegan papel crucial en la diferenciación condrogénica, por lo tanto, podría ser importante utilizar células madre mesenquimales como prevención en la degeneración del cartílago
Suzuki <i>et al</i> 2012	Se analizó el potencial condrogénico de las células madre mesenquimales <i>in vitro</i> con donantes humanos e <i>in vivo</i> en conejos	Donantes sanos	Analizados usando microarrays y reacción transcriptasa-polimerasa cuantitativa	Se llegó a la conclusión de que la implantación de células madre mesenquimales es una fuente muy útil en la regeneración de cartílago.
Fernandes <i>et al</i> 2013	Se estudió si los condrocitos derivados de donantes sanos pueden ayudar a la regeneración del cartílago en pacientes con osteoartritis	Donantes sanos	Para evaluar se empleó la reacción transcriptasa-polimerasa cuantitativa e inmunohistoquímica de fluorescencia	Por lo que se llegó a la conclusión de que los condrocitos son adecuados para la regeneración de cartílago en pacientes con osteoartritis.
Yang <i>et al</i> 2012	Se investigó el efecto del factor de crecimiento TGF-B y b-catenina durante la diferenciación condrogénica por células madre mesenquimales	Muestras de donantes	Se estudiaron diferentes medios, los cuales contenían: TGF-B solo, TGF-B con b-catenina transitoria o TGF-B con b-catenina continua	Los resultados sugirieron que la co-activación temporal con b-catenina puede producir cartílago de diferente fenotipo, y tiene aplicaciones potenciales en la regeneración de cartílago.
Zheng <i>et al</i> 2012	El objetivo de este estudio fue comparar los efectos de las células madre mesenquimales extraídas de médula ósea con condrocitos diferenciados de células madre mesenquimales sobre las células T específicas en colágeno tipo II en artritis reumatoide para evaluar el potencial terapéutico de las células madre mesenquimales en el tratamiento de artritis reumatoide.	El aislamiento de células madre mesenquimales fue de cinco pacientes sanos de entre 20 y 35 años. Se seleccionaron 37 pacientes con artritis reumatoide.	La técnica utilizada para evaluar la inhibición de las células T fue tiñendo el marcador CD3 con Anexina V.	Las células madre mesenquimales son un potencial candidato para la artritis reumatoide en el futuro, sobre todo si se confirma " <i>in vivo</i> ".
Moioli and Mao	Este estudio buscó la diferenciación de células madre mesenquimales hacia condrocitos <i>in situ</i> inducida por el factor de crecimiento TGF-B3 mediante geles termosensibles	Las células madre mesenquimales se aislaron de médula de médula ósea de donantes sanos, se hicieron dos grupos	Las células madre de los dos grupos fueron cultivadas en gel de quitosan a una temperatura de 37º, a uno de ellos se le añadió TGF-B3.	Se puede aislar células madre mesenquimales de la médula ósea del propio paciente y mediante un proceso corto en el laboratorio poder inyectarle condrocitos diferenciados y así reparar el cartílago dañado.

9. BIBLIOGRAFÍA:

1 Ahmed N., Stanford W., Kander R. Mesenchymal stem and progenitor cells for cartilage repair, *Skeletal Radiol.* 2007. 36, 909-912

2 Aung A., Gupta G., Majid G., and Varghese S. Osteoarthritic chondrocyte-secreted morphogens induce chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Arthritis Rheum.* 2011. 63(1): 148–158.

3 Chen W-H., Lai M-T., Wu A.T.H., Wu C-C., Gelovani J.G., Lin C-T, Hung S-C., Chiu W-T, and Deng W-P. In vitro stage-specific chondrogenesis of Mesenchymal stem cells committed to chondrocytes. *ARTHRITIS & RHEUMATISM.* 2009. Vol. 60, No. 2, pp 450–459 DOI 10.1002/art.24265

4 Fernandes A.M., Herlofsen S.R., Karlsen T.A., Kuchler A.M., Floisand Y., Brinchmann J.E., Similar properties of chondrocytes from osteoarthritis joints and Mesenchymal stem cells from healthy donors for tissue engineering of articular cartilage. 2013 Similar properties of chondrocytes from Osteoarthritis Joints and Mesenchymal Stem Cells from Healthy Donors for Tissue Engineering of Articular Cartilage.

5 Gamradt S., Lieberman J. Genetic Modification of Stem Cells to enhance bone repair. *Annals of biomedical engineering.* 2004. Vol. 32, 1, 136-147.

6 Junquera L.C., Carneiro J. *Histología básica: texto y atlas.* 1996. Masson, 111-119

7 Kraus Kh, Kirker-Head C. Mesenchymal stem cells and bone regeneration. 2006. *Vet surg.* vol. 35,3,232-242

8 Kurth T., Hedbom E., Shintani N., Sugimoto M., Chen F. H., Haspl M., Martinovic S. and Hunziker E.B. Chondrogenic potential of human synovial mesenchymal stem cells in alginate. *OsteoArthritis and Cartilage* 2007. 15, 1178-1189

- 9 Moioli E. K. and Mao J. J. Chondrogenesis of Mesenchymal Stem Cells by Controlled Delivery of Transforming Growth Factor- β 3. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2006; 1: 2647–2650.
- 10 Munuera L. Introducción a la traumatología y cirugía ortopédica. Mc Graw-Hill Interamericana. 1996 26-55.
- 11 Sampaio de Mara C., Sartori A.R., Duarte A.S., Andrade A.L.L., Pedro M.A.C., Coimbra I.B., 2011. Periosteum as a source of mesenchymal stem cells: the effects of TGF- β 3 on chondrogenesis. *CLINICS* 2011;66(3):487-492
- 12 Sharstuhl A., Schewe B., Benz K., Gaissmaier C., Buhning H-J, Stoop R. Chondrogenic potential of human adult Mesenchymal stem cells is independent of age or osteoarthritis etiology. *Stem Cells* 2007;25:3244–3251
- 13 Stevens A. Lowe J. *Histología humana*, Elsevier Mosby, 2006. 56-69
- 14 Suzuki S., Muneta T., Tsuji K., Ichinose S., Makino H., Umezawa A. and Sekiya I. Properties and usefulness of aggregates of synovial mesenchymal stem cells as a source for cartilage regeneration. *Arthritis Research & Therapy* 2012, 14:R136
- 15 Swieszkowski W., Ho Saey Tuan B., Kurzydowski K.J., Hutmacher D.W. Repair and regeneration osteochondral defects in the articular joints. 2007. *Bioeng* 344, No of pages 7
- 16 Tuan R.S., Boland G., Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis research and therapy*, 2003 Vol 5,1,32-45.
- 17 Tuan R. Stemming cartilage degeneration: Adult mesenchymal stem cells as a cell source for articular cartilage tissue engineering, *Arthritis and rheumatism*. 2006 vol.54,10, 3075-3078.
- 18 Van Buul G.M., Villafuertes E., Bos P.K., Waarsing J.H., Kops N., Narcisi R., Weinans H., Verhaar J.A.N., Bernsen M.R., van Osch G.J.V.M. Mesenchymal stem cells secrete factors that inhibit inflammatory processes in short-term osteoarthritic synovium and cartilage explant culture. *Osteoarthritis and Cartilage* 20. 2012. 1186-1196

19 Yang Z., Zou Y., Guo X.M., San Tan H., Denslin V., Yeow C.H., Ren X.F., Liu T.M., Hui J.H.P., and Lee E.H. Temporal activation of b-Catenin signaling in the chondrogenic process of Mesenchymal stem cells affects the phenotype of the cartilage generated. *Stem cells and developmen* 2012 Volume 21, Number 11.

20 Zheng Z. H., Li X. Y., Ding J., Jia J. F. and Zhu P. Allogeneic mesenchymal stem cell and mesenchymal stem cell-differentiated chondrocyte suppress the responses of type II collagen-reactive T cells in rheumatoid arthritis, *Rheumatology* 2008; 47:22–30