



**VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA**

*DEPARTAMENTO DE MEDICINA*

**Dr. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO, CATEDRÁTICO Y DIRECTOR DEL  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA,**

**CERTIFICO:**

Que el presente trabajo titulado "Tratamiento de la osteonecrosis de la cabeza femoral mediante la administración de células mesenquimales autólogas" ha sido realizado por el Ldo. D. Francisco Javier García García en el Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca, y reúne a mi juicio las condiciones de originalidad requeridas para optar al **Grado de doctor de la Universidad de Salamanca.**

Salamanca, a 17 de abril de 2023.

Fdo. Dr. D. Rogelio González Sarmiento.





VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA

*DEPARTAMENTO DE MEDICINA*

**D. JUAN FRANCISCO BLANCO BLANCO, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA  
POR LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA Y PROFESOR TITULAR DEL  
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA,**

**CERTIFICO:**

Que el presente trabajo titulado "Tratamiento de la osteonecrosis de la cabeza femoral mediante la administración de células mesenquimales autólogas" ha sido realizado bajo mi dirección por el Ldo. D. Francisco Javier García García en el Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca, y reúne a mi juicio las condiciones de originalidad requeridas para optar al **Grado de doctor de la Universidad de Salamanca.**

Salamanca, a 17 de abril de 2023.

Fdo. Dr. D. Juan Francisco Blanco Blanco.





VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**D. FERMÍN SÁNCHEZ-GUIJO MARTÍN, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA  
POR LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA Y PROFESOR TITULAR DEL  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA,**

**CERTIFICO:**

Que el presente trabajo titulado "Tratamiento de la osteonecrosis de la cabeza femoral mediante la administración de células mesenquimales autólogas" ha sido realizado bajo mi dirección por el Ldo. D. Francisco Javier García García en el Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca, y reúne a mi juicio las condiciones de originalidad requeridas para optar al **Grado de doctor de la Universidad de Salamanca.**

Salamanca, a 17 de abril de 2023.

Fdo. Dr. D. Fermín Sánchez-Guijo Martín.





**VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA**

*DEPARTAMENTO DE MEDICINA*

**TRATAMIENTO DE LA OSTEONECROSIS  
DE LA CABEZA FEMORAL MEDIANTE LA  
ADMINISTRACIÓN DE CÉLULAS  
MESENQUIMALES AUTÓLOGAS**

**Francisco Javier García García**

*Salamanca 2023*



El proyecto de investigación que ha constituido la base para este trabajo de Tesis Doctoral ha sido financiado por el Ministerio de Sanidad en la convocatoria para la concesión de ayudas para el fomento de la investigación clínica independiente (ref. EC10-188).





## **AGRADECIMIENTOS**



Quisiera expresar mi agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de este trabajo:

En primer lugar al Dr. Juan Blanco, quien me dio la oportunidad de realizar este ilusionante proyecto y sin quien su ayuda e inestimable apoyo no habría sido posible. Igualmente quiero aprovechar para agradecerle todas sus enseñanzas tanto desde el punto de vista profesional como personal durante mi periodo de formación, que han hecho sea el especialista que ahora soy.

Al Dr. Fermín Sánchez-Guijo, que ha compartido una visión científica excepcional para este trabajo, aportando y enseñándome numerosos conceptos en el campo de la biología celular. Sin él este trabajo tampoco habría sido posible.

Al Dr. Pescador, quien ha supuesto un pilar fundamental, contagiándome constantemente su motivación por la investigación y cuyos consejos y recomendaciones para este trabajo han sido mi guía. Su dedicación, disponibilidad y comprensión han mantenido mi ilusión por el proyecto.

Al laboratorio de Terapia Celular del Hospital Universitario de Salamanca, Dra. Sandra Mountión, y especialmente a la Dra. Eva Villarón, por su ayuda tan desinteresada y esencial para la recopilación de datos y seguimiento del estudio.

Al Dr. José Ángel Santos, radiólogo y encargado de analizar las pruebas de imagen de todo el estudio.

Echando la vista atrás, tampoco quiero dejar escapar la oportunidad de agradecer al Servicio de Traumatología de Salamanca, equipo médico y de enfermería, y en especial a mis residentes "pequeños y mayores", por el apoyo durante todo este tiempo y su colaboración, que me ha hecho poder salvar la distancia. Fue siempre un placer trabajar con un equipo así.



*A vosotras, Marian y Belén, mi madre y mi hermana, que estuvieron desde el comienzo del camino, siempre. Sin ellas no sería la persona que ahora soy.*



*Especialmente a ti, Marisa, sin ti nada nada de lo que sucede en mi vida es posible.*

*Perdón por todo el tiempo robado.*



## **ABREVIATURAS**



**αMEM:** Alpha Minimum Essential Medium.

**AA:** acontecimiento adverso.

**AAG:** acontecimiento adverso grave.

**ACFM:** arteria circunfleja femoral medial.

**AEMPS:** Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

**AR:** arterias retinaculares.

**ARCO:** Association Research Circulation Osseous.

**ARI:** arteria retinacular inferior.

**ARS:** arteria retinacular superior.

**AS:** artroplastia de superficie.

**ASA:** American Society of Anesthesiologists.

**ATC:** artroplastia total de cadera.

**AVD:** actividades de la vida diaria.

**CCC:** condrosarcoma de células claras.

**CEIC:** Comité Ético de Investigación Clínica.

**CFU-F:** células formadoras de colonias de fibroblastos.

**CRD:** cuaderno de recogida de datos.

**CSM:** células stem (madre) mesenquimales.

**CSM-CU:** células stem mesenquimales obtenidas de sangre de cordón umbilical.

**CSM-MO:** células stem mesenquimales obtenidas de médula ósea.

**CSM-TA:** células stem mesenquimales obtenidas de tejido adiposo.

**DN:** descompresión del núcleo.

**ECG:** electrocardiograma.

**EVA:** escala visual analógica del dolor.

**GMP:** Good Manufacturing Practices.

**g:** fuerza centrífuga relativa.

**gr:** gramos.

**HBPM:** heparina de bajo peso molecular.

**HHS:** Harris Hip Score.

**HMG-CoA:** 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A.

**HUS:** Hospital Universitario de Salamanca.

**IL:** interleuquina.

**IONV:** injerto óseo no vascularizado.

**IOV:** injerto óseo vascularizado.

**ISCT:** International Society for Cellular Therapy.

**iv:** vía intravenosa.

**LCA:** ligamento cruzado anterior.

**mg:** miligramos.

**miR:** microARN.

**ml:** mililitros.

**mm:** milímetros.

## Abreviaturas

**MO:** médula ósea.

**PBS:** phosphate buffered saline.

**OCE:** ondas de choque extracorpóreas.

**OFP:** osteotomía femoral proximal.

**OH:** oxígeno hiperbárico.

**ONCF:** osteonecrosis de la cabeza femoral.

**OR:** odds ratio.

**OSHA:** Administración de Seguridad y Salud Ocupacional.

**PET:** tomografía por emisión de positrones.

**PPAR $\gamma$ :** receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma.

**PSCF:** procedimientos de salvamento de la cabeza femoral.

**PAR:** procedimientos de reemplazo articular.

**RM:** resonancia magnética.

**RR:** riesgo relativo.

**Rx:** radiografía.

**SIDA:** síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

**TA:** tensión arterial.

**TAC:** tomografía axial computerizada.

**VIH:** virus de la inmunodeficiencia humana.

## **RESUMEN**



## RESUMEN

La osteonecrosis de la cabeza femoral es una enfermedad evolutiva que por distintos mecanismos fisiopatológicos aún no del todo comprendidos, propicia una disminución del aporte sanguíneo al hueso con la consiguiente muerte ósea celular. En estadios iniciales puede cursar con clínica leve o incluso asintomática, pero en fases más avanzadas, especialmente cuando afecta a la arquitectura articular de la cadera, la sintomatología suele ser incapacitante, siendo las opciones terapéuticas previas a una artroplastia total, escasas y de controvertida eficacia. Basándonos en los recientes avances en el campo de la terapia celular, planteamos un ensayo clínico en fase II en 8 pacientes en el que asociamos a un tratamiento clásico como es la descompresión del núcleo femoral, la adición de células mesenquimales autólogas obtenidas de la cresta ilíaca de los pacientes, que previamente habían sido aisladas y cultivadas. Cada paciente mantuvo un seguimiento mínimo de un año, a lo largo del cual se evaluó de forma periódica la evolución clínica mediante cuestionarios y escalas como la EVA, el Harris Hip Score y el SF-36. Se realizaron radiografías de control en cada visita y una resonancia magnética en las dos últimas. De la misma manera, se verificó la seguridad y factibilidad del proceso durante todo el seguimiento. Como resultado observamos una mejoría clínica, un aumento de la funcionalidad y una ganancia en los valores de los cuestionarios a lo largo del seguimiento, así como una estabilización radiológica en la mayoría de los pacientes, sin observar efectos secundarios relacionados. Podemos concluir por tanto, que la terapia celular con células mesenquimales implantadas a través de la descompresión del núcleo femoral, es un procedimiento factible, seguro y potencialmente útil en el tratamiento de la osteonecrosis de la cabeza femoral.

### Palabras clave

Osteonecrosis cabeza femoral, descompresión núcleo, terapia celular, células mesenquimales, cultivo celular.



## **ABSTRACT**

Osteonecrosis of the femoral head is a progressive disease that, due to different pathophysiological mechanisms not yet fully understood, causes a decrease in the blood supply to the bone with the consequent bone cell death. In the early stages, it may present with mild symptoms or even asymptomatic, but in more advanced stages, especially when it affects to the joint architecture of the hip, the symptoms are usually disabling, and the therapeutic options prior to total arthroplasty are scarce and have a controversial efficacy. Based on recent advances in the field of cell therapy, we propose a phase II clinical trial in 8 patients in which we combined a classic treatment such as core decompression of the femoral head with the addition of autologous mesenchymal cells obtained from the iliac crest of the patients, which have previously been isolated and cultured. Each patient had a minimum follow-up of one year; the clinical evolution was periodically evaluated during that period using questionnaires and scales such as the VAS, the Harris Hip Score and the SF-36. Control radiographs were performed at each visit and magnetic resonance imaging was also performed in the last two visits. In the same way, the safety and feasibility of the process was verified throughout the follow-up. As a result, we observe a clinical improvement, an increase in functionality and a gain in the values of the questionnaires throughout the follow-up, as well as a radiological stabilization in most of the patients, without observing related side effects. We can therefore conclude that cell therapy with the injection of mesenchymal cells through the core decompression tract is a feasible, safe and potentially useful procedure in the treatment of osteonecrosis of the femoral head.

## **Keywords**

Femoral head osteonecrosis, core decompression, cell therapy, mesenchymal cells, cell culture.



## ÍNDICE



## Índice

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>1.1 NECROSIS NO TRAUMÁTICA DE LA CABEZA FEMORAL.....</b>	<b>40</b>
1.1.1 <i>Concepto</i> .....	40
1.1.2 <i>Epidemiología</i> .....	40
1.1.3 <i>Etiología y factores de riesgo</i> .....	42
1.1.4 <i>Fisiopatología y evolución natural</i> .....	45
1.1.5 <i>Diagnóstico</i> .....	48
1.1.6 <i>Sistemas de clasificación</i> .....	51
1.1.7 <i>Diagnóstico diferencial</i> .....	56
<b>1.2 ABORDAJES TERAPÉUTICOS .....</b>	<b>57</b>
1.2.1 <i>Tratamiento conservador</i> .....	58
1.2.1.1 <i>Medidas de terapia física</i> .....	59
1.2.1.2 <i>Tratamiento farmacológico</i> .....	60
1.2.2 <i>Tratamiento quirúrgico</i> .....	63
1.2.2.1 <i>Procedimientos de salvamento de la cabeza femoral</i> .....	64
1.2.2.2 <i>Procedimientos de reemplazo articular</i> .....	71
1.2.3 <i>Nuevas terapias y líneas de investigación</i> .....	74
<b>1.3 CÉLULAS MESENQUIMALES Y SUS PROPIEDADES .....</b>	<b>78</b>
1.3.1 <i>Multipotencialidad</i> .....	79
1.3.2 <i>Plasticidad</i> .....	79
1.3.3 <i>Capacidad antiapoptótica</i> .....	80
1.3.4 <i>Inmunomodulación</i> .....	81
1.3.5 <i>Antifibrótico</i> .....	82
1.3.6 <i>Soportes para el crecimiento y diferenciación de células madre y progenitoras locales</i> .....	82
1.3.7 <i>Angiogénesis</i> .....	83
1.3.8 <i>Quimiotaxis</i> .....	83
<b>1.4 CÉLULAS MESENQUIMALES EN CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA .....</b>	<b>84</b>
1.4.1 <i>Lesiones osteoarticulares</i> .....	84
1.4.2 <i>Lesiones medulares</i> .....	85
1.4.3 <i>Artrosis y lesiones condrales</i> .....	86
1.4.4 <i>Lesiones ligamentosas y tendinosas</i> .....	87
1.4.5 <i>Lesiones meniscales</i> .....	88
1.4.6 <i>Enfermedades óseas</i> .....	88
<b>2. HIPÓTESIS .....</b>	<b>93</b>

<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>93</b>
<b>3.1 GENERAL .....</b>	<b>93</b>
<b>3.2 ESPECÍFICOS .....</b>	<b>93</b>
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>97</b>
<b>4.1 PACIENTES .....</b>	<b>97</b>
<b>4.1.1 Población a estudio.....</b>	<b>97</b>
<b>4.1.2 Criterios de participación en el estudio y periodo de inclusión.....</b>	<b>98</b>
<b>4.1.3 Información proporcionada a los sujetos y tipo de consentimiento solicitado en el ensayo.....</b>	<b>98</b>
<b>4.1.4 Evaluación previa de los pacientes.....</b>	<b>99</b>
<b>4.1.5 Periodos y duración esperada de la participación de los sujetos.....</b>	<b>101</b>
<b>4.2 PRODUCCIÓN CELULAR.....</b>	<b>102</b>
<b>4.2.1 Extracción de médula ósea.....</b>	<b>102</b>
<b>4.2.2 Aislamiento y expansión de las CSM.....</b>	<b>102</b>
<b>4.3 ADMINISTRACIÓN CELULAR.....</b>	<b>107</b>
<b>4.3.1 Presentación del producto en investigación.....</b>	<b>107</b>
<b>4.3.2 Procedimiento de administración.....</b>	<b>108</b>
<b>4.4 SEGUIMIENTO Y EVALUACIÓN DEL PACIENTE .....</b>	<b>111</b>
<b>4.4.1 Desarrollo del ensayo.....</b>	<b>111</b>
<b>4.4.2 Seguimiento y evolución postimplantación.....</b>	<b>113</b>
<b>4.4.3 Definición del fracaso terapéutico .....</b>	<b>117</b>
<b>4.4.4 Criterios y análisis previsto de las retiradas y abandonos .....</b>	<b>117</b>
<b>4.4.5 Monitorización.....</b>	<b>119</b>
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>123</b>
<b>5.1 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO .....</b>	<b>123</b>
<b>5.2 RESULTADOS DE LOS CUESTIONARIOS .....</b>	<b>129</b>
<b>5.3 EVOLUCIÓN DE LAS PRUEBAS DE IMAGEN .....</b>	<b>136</b>
<b>5.4 SITUACIÓN CLÍNICA Y EXPLORACIÓN FÍSICA.....</b>	<b>145</b>
<b>5.5 NECESIDAD DE ATC.....</b>	<b>151</b>
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>155</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>169</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>173</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>187</b>

## **ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS**



## Índice de figuras

Figura 1. <i>Ramas arteriales que nutren la cabeza femoral.</i> .....	46
Figura 2. <i>Rx axial de cadera. Signo de la media luna.</i> .....	50
Figura 3. <i>RM de caderas. Signo de la doble línea bilateral.</i> .....	51
Figura 4. <i>Imagen intraoperatoria del colapso y fractura subcondral de la cabeza femoral.</i> .....	63
Figura 5. <i>Proceso quirúrgico de forage y administración CSM.</i> .....	110
Figura 6. <i>Consumo de analgésicos en las visitas de seguimiento.</i> .....	127
Figura 7. <i>Evolución de los valores medios de la EVA.</i> .....	130
Figura 8. <i>Evolución de los valores medios totales del cuestionario Harris.</i> .....	134
Figura 9. <i>Evolución de los valores medios globales de salud física y mental del cuestionario SF-36.</i> .....	136
Figura 10. <i>Evolución de los cambios radiográficos.</i> .....	137
Figura 11. <i>Secuencia de Rx AP y axiales en el paciente 04.</i> .....	138
Figura 12. <i>Secuencia de Rx AP y axiales en el paciente 05.</i> .....	138
Figura 13. <i>Secuencia de Rx AP en el paciente 01.</i> .....	139
Figura 14. <i>Secuencia de imágenes de RM en el paciente 02.</i> .....	140
Figura 15. <i>Secuencia de imágenes de RM en el paciente 03.</i> .....	141
Figura 16. <i>Secuencia de imágenes de RM en el paciente 04.</i> .....	142
Figura 17. <i>Secuencia de imágenes de RM en el paciente 06.</i> .....	143
Figura 18. <i>Secuencia de imágenes de RM en el paciente 08.</i> .....	144
Figura 19. <i>Cambios clínicos de los pacientes al final del seguimiento.</i> .....	146
Figura 20. <i>Evolución en la ganancia media de grados de movilidad total.</i> .....	150
Figura 21. <i>Corte coronal de la cabeza femoral de uno de los pacientes que precisó una ATC.</i> .....	151

## Índice de tablas

Tabla 1. <i>Clasificación de Ficat y Arlet modificada.</i> .....	52
Tabla 2. <i>Clasificación de la Universidad de Pennsylvania (Steinberg).</i> .....	54
Tabla 3. <i>Clasificación de ARCO.</i> .....	55
Tabla 4. <i>Clasificación del Comité de Investigación Japonés.</i> .....	56
Tabla 5. <i>Métodos y valores de los procesos de control celular.</i> .....	107
Tabla 6. <i>Seguimiento y parámetros valorados en cada visita.</i> .....	116
Tabla 7. <i>Edad.</i> .....	123
Tabla 8. <i>Variabes basales de los pacientes.</i> .....	124

<b>Tabla 9. Riesgo Cardiovascular previo.</b> .....	<b>124</b>
<b>Tabla 10. Patología previa distinta.</b> .....	<b>125</b>
<b>Tabla 11. Bebedor.</b> .....	<b>125</b>
<b>Tabla 12. Fumador.</b> .....	<b>126</b>
<b>Tabla 13. Uso de corticoides.</b> .....	<b>126</b>
<b>Tabla 14. Tratamiento analgésico post-implantación celular.</b> .....	<b>127</b>
<b>Tabla 15. Situación laboral.</b> .....	<b>128</b>
<b>Tabla 16. Presencia de ONCF en una o ambas caderas al inicio.</b> .....	<b>128</b>
<b>Tabla 17. Actividad física previa.</b> .....	<b>129</b>
<b>Tabla 18. Actividad física tras la finalización del estudio.</b> .....	<b>129</b>
<b>Tabla 19. Valores de la escala visual analógica del dolor (EVA).</b> .....	<b>130</b>
<b>Tabla 20. Valores cuestionario Harris. Apartado Dolor.</b> .....	<b>131</b>
<b>Tabla 21. Valores cuestionario Harris. Apartado Función.</b> .....	<b>131</b>
<b>Tabla 22. Valores cuestionario Harris. Apartado Actividad.</b> .....	<b>132</b>
<b>Tabla 23. Valores cuestionario Harris. Apartado Ausencia de deformidad.</b> .....	<b>133</b>
<b>Tabla 24. Valores cuestionario Harris. Apartado Movilidad.</b> .....	<b>133</b>
<b>Tabla 25. Valores cuestionario Harris. Totales.</b> .....	<b>134</b>
<b>Tabla 26. Cuestionario SF-36. Valores globales de salud física.</b> .....	<b>135</b>
<b>Tabla 27. Cuestionario SF-36. Valores globales de salud mental.</b> .....	<b>135</b>
<b>Tabla 28. Cambios radiográficos.</b> .....	<b>137</b>
<b>Tabla 29. Estadios RM (ARCO).</b> .....	<b>140</b>
<b>Tabla 30. Cambios clínicos.</b> .....	<b>145</b>
<b>Tabla 31. Balance articular. Grados de flexión.</b> .....	<b>147</b>
<b>Tabla 32. Balance articular. Grados de abducción.</b> .....	<b>147</b>
<b>Tabla 33. Balance articular. Grados de aducción.</b> .....	<b>148</b>
<b>Tabla 34. Balance articular. Grados de rotación externa.</b> .....	<b>148</b>
<b>Tabla 35. Balance articular. Grados de rotación interna.</b> .....	<b>149</b>
<b>Tabla 36. Balance articular. Total grados de movilidad.</b> .....	<b>149</b>
<b>Tabla 37. Aparición de complicaciones.</b> .....	<b>150</b>
<b>Tabla 38. Artroplastia final.</b> .....	<b>151</b>

# INTRODUCCIÓN



# 1. Introducción

Osteonecrosis etimológicamente significa “muerte de hueso” (del latín, *ossis*=hueso; *necrosis*=muerte). El primer uso de este concepto fue hecho por Hipócrates, pero la primera descripción clínica se atribuye a Russel en 1794, a raíz de una osteonecrosis de origen séptico. Esto supuso que se tardara más de un siglo en demostrar, gracias a los descubrimientos bacteriológicos de Pasteur, que la necrosis de un hueso puede ocurrir también en ausencia de infección<sup>1</sup>.

Desde entonces hasta ahora hemos aprendido a darle un nombre y un concepto, a clasificarla, a diagnosticarla y a describir su patogenia. Pero su tratamiento ha supuesto un reto para los cirujanos, ya en tiempos remotos por desconocimiento de su fisiopatología, y en el momento actual, porque a pesar de contar con numerosos procedimientos, la falta de una mejoría clínica, así como la ausencia de consensos y guías terapéuticas, demuestra que estamos ante una patología en la que no existe una cura definitiva o *gold estándar* establecido.

En la actualidad una nueva línea de tratamiento se ha abierto. Los avances en la regeneración tisular se han desarrollado notablemente, en gran parte debido al descubrimiento de las células madre y su conocido potencial de diferenciación. Y es que, si la capacidad de autoreparación de tejidos es frecuente en muchos organismos vivos, como es por ejemplo la cicatrización de heridas, la consolidación de fracturas o el mismo ciclo menstrual; invita a pensar que un fenómeno tan natural sea mediado por un tipo de célula especial con capacidad para transformarse en un tejido específico según las necesidades. Esta es la idea en la que se enmarca el concepto de célula madre, una célula capaz de convertirse en otra según la señal que la estimule.

Por tanto, el objetivo de este trabajo doctoral es el de evaluar, mediante un ensayo clínico fase II, una alternativa de tratamiento para la osteonecrosis de la cabeza femoral basada en la terapia celular, a través de la implantación de células madre mesenquimales autólogas con capacidad de diferenciación a células óseas, promoviendo la reparación del área ósea necrosada. De esta manera podremos, en primer lugar, observar el patrón evolutivo de la enfermedad con esta modalidad de tratamiento, comparar con otras

alternativas terapéuticas y evaluar resultados con procedimientos similares de otros autores, estableciendo estrategias de mejora si fuera necesario, antes de plantear un estudio fase III aleatorizado.

A la hora de clasificar la osteonecrosis distinguimos dos grandes grupos: la osteonecrosis de causa *traumática* y la *no traumática*, incluyendo ésta última a la idiopática, objeto del presente estudio y por tanto, a la que nos referiremos en adelante.

## **1.1 Necrosis no traumática de la cabeza femoral**

### **1.1.1 Concepto**

La osteonecrosis de la cabeza femoral (ONCF) es la etapa final de un proceso degenerativo precedido por la disminución del aporte sanguíneo, que conlleva inexorablemente a la pérdida del tejido celular óseo y con ello al colapso estructural y consecuentes cambios degenerativos en el resto de la articulación de la cadera.

Este síndrome ha pasado por numerosas denominaciones. Inicialmente se utilizó el de *necrosis aséptica* con la idea de diferenciarlo de la patología de causa infecciosa. Más adelante se acuñó el término de *necrosis isquémica* o *avascular*, dando a entender su origen patogénico, aunque no del todo exacto al observar que en ciertos casos el fragmento óseo podía volver a revascularizarse. Así pues, el término más aceptado en el presente es el de *osteonecrosis*, denominación más imparcial que nos hace referencia al hecho fundamental de esta entidad que es la necrosis del tejido óseo<sup>2</sup>.

### **1.1.2 Epidemiología**

La ONCF es una enfermedad que afecta mayoritariamente a personas jóvenes y activas entre la 3<sup>o</sup> y 5<sup>o</sup> décadas de la vida, con una ratio hombre/mujer de aproximadamente 4:1. Es relativamente frecuente, aunque su incidencia es variable. Se estima que son

diagnosticados entre 20.000 y 30.000 nuevos pacientes cada año en Estados Unidos, y supone aproximadamente un 10% del total de las 500.000 artroplastias totales de cadera (ATC) que se realizan<sup>3, 4</sup>. Igualmente, en países como Japón o China, en donde el hecho de padecer esta enfermedad supone la posibilidad de percibir una ayuda por parte del estado, sí son frecuentes los estudios que estiman la frecuencia, siendo los porcentajes de 0.523%<sup>5</sup> y 0.725%<sup>6</sup> respectivamente. Para España en cambio, resulta difícil encontrar datos epidemiológicos fiables sobre la ONCF no traumática. Según el conjunto mínimo básico de datos (CMBD), obtenido a partir de los informes de altas de los hospitales del Sistema Nacional de Salud (datos del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad)<sup>7</sup>, y analizando únicamente el diagnóstico principal al alta, en España se implantaron 43.307 prótesis totales de cadera en 2016, lo que podría suponer aproximadamente en torno a 2.000 y 4.000 ATC anuales debidas a ONCF si nos guiamos por la prevalencia descrita. No se dispone de información sobre el número de artroplastias implantadas en los centros sanitarios españoles que no corresponden al Sistema Nacional de Salud.

Lo que sí se conoce con certeza es el incremento de la prevalencia en los últimos años. Parece deberse al uso más extendido de tratamientos médicos, tales como corticoides, agentes quimioterápicos o antiretrovirales para el VIH-SIDA (Virus de la inmunodeficiencia humana-Síndrome de inmunodeficiencia adquirida)<sup>8</sup>; así como por el aumento de la prevalencia de enfermedades relacionadas y factores de riesgo<sup>9</sup> asociados. Desafortunadamente, la ONCF en la mayoría de las ocasiones es progresiva e invalidante, acabando en una artroplastia de cadera, lo que supone que, al ser personas de edad media y condición activa, el impacto en su vida diaria sea notable. No obviando a la par, que la posibilidad de un nuevo reemplazo articular por desgaste es elevada dada la esperanza media de vida actual.

Muy a tener en cuenta en esta enfermedad es que se han comunicado más del 50% de casos de bilateralidad, es decir, si no en el mismo momento del diagnóstico, a lo largo de su proceso evolutivo, tendremos afectación de la cadera contralateral en más de la mitad de los casos. Existen estudios en los que se confirma mediante biopsia una incidencia de bilateralidad de hasta el 88,5% de los casos<sup>10</sup>. La presentación de los síntomas puede ser asincrónica, pero debido a que la progresión se produce al margen de la aparición temporal de los síntomas, debe tenerse siempre un elevado índice de sospecha respecto a la posibilidad de afectación bilateral.

### 1.1.3 Etiología y factores de riesgo

A pesar de conocer que el mecanismo básico y final de producción de la ONCF es la interrupción del aporte sanguíneo a zonas de la cabeza femoral, la etiología concreta aún se desconoce. Se ha asociado a diversas enfermedades y a una larga lista de factores de riesgo, algunos de los cuales aún no han sido demostrados. Analizar la incidencia de cada uno de ellos es ardua tarea dado que la variabilidad es amplia en función del lugar de donde provengan los datos, pudiendo haber bastantes sesgos según la prevalencia o tipo de enfermedades que se atiendan con mayor frecuencia o que sean endémicas en ese ámbito, lo que explica la variabilidad entre estudios<sup>2</sup>.

Los factores de riesgo más firmemente propuestos son:

1. *Alcohol*<sup>2, 11-14</sup>. Factor de riesgo bien demostrado. El problema se plantea para determinar la cantidad necesaria para ser considerada excesiva y por tanto agente causal. Encontramos al respecto 2 estudios especialmente relevantes. Según *Matsuo et al.*<sup>15</sup> e *Hirota et al.*<sup>16</sup>, con 112 y 118 pacientes con ONCF respectivamente, exponen cómo el riesgo relativo de padecer esta enfermedad crece exponencialmente según la dosis de alcohol consumida por semana, demostrando la influencia de éste como factor etiológico y su relación dosis-respuesta.
2. *Corticoides*<sup>2, 11-14</sup>. La corticoterapia parece ser otro de los principales factores de riesgo. En numerosos estudios se atribuye como factor etiológico de entre el 10 y el 30% de los casos. Pero debemos ser precavidos al analizar estos porcentajes, a parte de por ser tomados de estudios de corte, porque la relación causa-efecto, corticoide-ONCF, es circunstancial, es decir, nos basamos en que un conjunto de enfermedades que tienen como denominador común el uso de corticoides, tienen un riesgo relativo mayor demostrado de producir ONCF. Por tanto, muchas veces resulta complicado separar los efectos propios del corticoide sobre el hueso de los producidos por la enfermedad subyacente, como pueden ser la desmineralización u osteoporosis causadas por el fallo renal o hepático, por ejemplo. Al igual que con el alcohol, se plantea la pregunta de qué dosis sería necesaria para desarrollar una ONCF, algo que parece estar bastante debatido. En los pocos estudios al respecto se aclara que existe una mayor asociación dosis-efecto con la dosis media diaria y dosis máxima administrada que con la dosis acumulada o duración del tratamiento.

De este modo, dosis altas tienen más riesgo aún administradas durante menos tiempo. De media, según los distintos estudios y enfermedades con que correlacionan el uso de corticoides, se puede establecer que dosis diarias mayores de 20-40 miligramos (mg) están asociadas a esta enfermedad, usando la prednisona como equivalente corticoideo<sup>17-19</sup>. Mejor definido parece estar el periodo medio de aparición de la enfermedad tras la corticoterapia. *Sakamoto et al.*<sup>20</sup> evaluaron la aparición precoz de necrosis femoral mediante resonancia magnética (RM) en 48 pacientes tratados con altas dosis de corticoide, viendo que el tiempo medio de aparición de cambios radiológicos era de 3.6 meses tras iniciar el tratamiento. Otros estudios similares son los de *Koo et al.*<sup>21</sup> o el llevado a cabo por *Fink et al.*<sup>22</sup>, que estiman una media de tiempo de aparición de 5.3 meses y de 3 meses en el caso de trasplantados renales, respectivamente. Por tanto, en términos generales podemos decir que la administración de dosis medias diarias superiores a 40 mg de prednisona o equivalente durante más de 3 meses está fuertemente asociada a la aparición de ONCF.

3. *Tabaco*<sup>12, 14-16, 23</sup>. También asociado como factor de riesgo, los mismos autores que describieron la asociación con el alcohol demostraron una asociación positiva entre el tabaco y la ONCF. En concreto, *Hirota et al.*<sup>16</sup> presentaba resultados con una OR=4.9 para fumadores activos, observando que a partir de 20 paquetes/año no se mantenía la tendencia creciente de aparición de la enfermedad. *Matsuo et al.*<sup>15</sup> obtuvieron hallazgos similares, un RR=3.9, con la salvedad de que el efecto acumulativo del tabaco no era evidente. Igualmente, diversos estudios apoyan el hecho de que el tabaco inhibe la osteogénesis y la curación de las fracturas<sup>23, 24</sup>.
4. *Hemoglobinopatías*<sup>2, 11, 13, 14, 25, 26</sup>. Pacientes con anemia falciforme (hemoglobina SS) o con enfermedad de la hemoglobina SC tienen, de la misma manera, mayor predisposición a padecer ONCF, con una incidencia del 4-12% para la anemia falciforme<sup>25</sup> y de entre el 20-68% para la hemoglobina SC<sup>26</sup>.
5. *Disbarismo*. Fundamentalmente son dos las causas: trabajadores en galerías subterráneas o que utilizan aire comprimido (enfermedad del cajón hidráulico) y buceadores de alta mar. Anteriormente se prestaba gran interés a esta causa, actualmente, y gracias a la imposición de medidas de seguridad más estrictas por la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA)<sup>27</sup>, que regulan las

presiones de seguridad en el trabajo y protocolizan los procesos de descompresión, la incidencia ha disminuido notablemente.

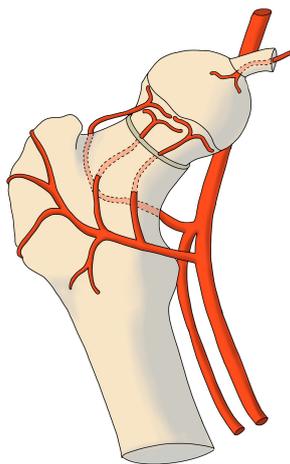
6. *Virus de la inmunodeficiencia humana*<sup>9, 12, 14, 28-34</sup>. Pacientes VIH positivo tienen según los últimos trabajos un mayor riesgo. Lo que no está claro definitivamente es si ese incremento es debido al virus en sí, o al tratamiento que conlleva (antiretrovirales, corticoides o quimioterapéuticos). Por un lado, tenemos estudios como el de *Blacksin et al.*<sup>29</sup> o *Miller et al.*<sup>30</sup>, donde llegan a la conclusión que la ONCF no parece relacionada directamente con el virus sino más bien con el tratamiento esteroideo que precisa. Otros estudios señalan la terapia antiretroviral como principal causante<sup>31-33</sup>. Y en contraposición a estos trabajos, nos encontramos con el llevado a cabo por *Ries et al.*<sup>34</sup>, que presentan una relación VIH-ONCF estadísticamente significativa al compararlo con su grupo control, sugiriendo la asociación directa entre ONCF e infección por VIH.
7. *Embarazo*<sup>2, 11, 12, 14, 35-38</sup>. A pesar de ser una complicación extremadamente rara durante el embarazo, existen casos descritos de ONCF durante este periodo. Se revisan los últimos casos publicados hasta la fecha, donde la tónica más común es la de una mujer primigesta sin otros factores de riesgo característicos que desarrolla ONCF durante el periodo de gestación o primer mes postparto, y además en gran proporción de forma bilateral. Se incide en la necesidad de establecer el diagnóstico diferencial con una posible osteoporosis transitoria, que en ocasiones supone una dificultad por la similitud en su presentación<sup>38</sup>.
8. *Otros.*<sup>2, 11, 13, 14</sup> Existen muchos otros factores etiológicos asociados en menor medida, y que son difíciles de establecer debido al “cajón de sastre” que en muchas ocasiones supone el término idiopático, y en el que tienden a englobarse todas aquellas patologías de las que desconocemos, bien sea su causa de aparición o su mecanismo fisiopatológico. Únicamente disponemos de algunas muestras con baja incidencia. Algunos de estos son: *hiperlipidemia, pancreatitis, hiperuricemia, enfermedad de Gaucher, neoplasias, reacciones de hipersensibilidad o radiación.*

### 1.1.4 Fisiopatología y evolución natural

Para entender más fácilmente la evolución fisiopatológica y natural de esta enfermedad es importante recordar la base anatómica del principal objeto del problema que es la irrigación vascular de la cabeza femoral.

La *arteria femoral* es continuación de la *arteria iliaca externa*. Está situada en la parte anteromedial del muslo y recorre desde el ligamento inguinal hasta el hiato poplíteo. Da lugar a seis ramas colaterales, la quinta de proximal a distal es la más importante en nuestro caso, la *arteria femoral profunda*, de la que surge la *arteria circunfleja femoral medial (ACFM)* que es la que irriga la cabeza femoral<sup>39, 40</sup>.

Esta arteria inmediatamente se profundiza pasando entre los músculos psoas ilíaco y pectíneo. Durante su trayecto posterior aporta ramas a los músculos aductores, recto interno y obturador externo. Comúnmente existen anastomosis entre los vasos que irrigan el músculo aductor menor y la arteria obturatriz. Después, la ACM se dirige hacia posterior y lateral por el borde inferior del músculo obturador externo, desde donde salen una o dos ramas que irrigan la zona posterolateral del trocánter mayor, y otras dos o tres que nutren el trocánter menor. Casi en la inserción del músculo obturador externo en el fémur nace la rama ascendente, que sube por detrás del trocánter mayor y lo irriga<sup>41</sup>. La ACFM continua por debajo del tendón conjunto y es bajo su inserción en el trocánter mayor donde penetra la cápsula para formar las *arterias retinaculares (AR)*, las cuales son la principal fuente de irrigación de la cabeza femoral. Concretamente son la *arteria retinacular superior (ARS)* e *inferior (ARI)*, que llegan a la cápsula y una vez penetran siguen por trayectos fibrosos intracapsulares conocidos como *retinacula de Weitbrecht*, penetrando en la cabeza femoral pocos milímetros (mm) antes de comenzar el borde articular.



**Figura 1. *Ramas arteriales que nutren la cabeza femoral.***

Tradicionalmente se ha considerado a la ARS la principal fuente de aporte a la cabeza femoral, mientras la ARI ha recibido mucha menos importancia. Pero en estudios recientes con perfusión mediante RM, se ha demostrado que el aporte por parte de este vaso también es significativo, lo que le está dotando en la actualidad de gran importancia con numerosas publicaciones al respecto<sup>42</sup>.

Igualmente, no olvidemos que en menor medida, existen otros dos mecanismos de aporte vascular, el que ofrece la circulación intraósea y el aporte a través del ligamento Teres que conecta con la cabeza femoral.

Todo el entramado y la conexión vascular que hace que la cabeza se nutra e irrigue es el apartado más claramente conocido. A partir de aquí, al hacer una extensa revisión de la literatura, observamos que existe gran controversia y desconocimiento en cuanto a la patogenia de esta enfermedad, existiendo multitud de caminos secundarios, en su mayor parte ignotos, que convergen en un proceso común y sí conocido que es la muerte del osteocito consecuente a la isquemia. Por tanto, aún a día de hoy, en la ONCF se “presuponen” las vías patogénicas que llevan a la oclusión vascular, explicado en parte por la dificultad de llevar a cabo estudios longitudinales en seres humanos y disponer únicamente de estudios en animales. Este pobre conocimiento impide en gran medida el

desarrollo de algún tipo de medida profiláctica o tratamiento farmacológico que pueda detener la evolución de la enfermedad.

En las tres últimas décadas se han propuesto multitud de hipótesis. Hasta la fecha, algunas de las más aceptadas serían las siguientes:

- a) Coagulación intravascular<sup>9, 43-48</sup>. Son diversos los estudios que han demostrado la existencia de hipofibrinólisis y trombofilia que producen un aumento de eventos trombóticos en estos pacientes. Así, existen numerosas patologías de la coagulación tales como el descenso de la proteína C y S, aumento de niveles lipoproteína A o factor de von Willebrand que se han relacionado con la ONCF.
- b) Acumulación de lípidos e hipertensión intraósea<sup>9, 48, 49</sup>. Distintos factores, como pueden ser la administración de corticoides o la enfermedad de Gaucher, producen depósitos de lípidos en el espacio extravascular de la médula y entre los osteocitos, pudiendo producir un aumento de la presión extravascular intraósea. Además, se puede producir una hipertrofia y proliferación de los lípidos por un metabolismo alterado de éstos que conlleva el mismo resultado. De esta forma, entendiendo el vaso como un conducto estanco poco flexible, su flujo a través estaría reducido debido a la elevación de la presión dentro de la cámara.
- c) Teoría genética<sup>9, 11, 12</sup>. La ONCF ha sido también asociada a ciertos polimorfismos genéticos. *Liu et al.*<sup>50</sup> identificaron 3 familias con una herencia autosómica dominante de ONCF relacionada con una mutación del gen COL2A1. La importancia de esta teoría radica en que brindaría la oportunidad de que, en familiares de personas afectadas por ONCF, pudiera hacerse un screening que permitiese evitar la exposición a factores de riesgo que favoreciesen la enfermedad por predisposición genética.
- d) Alteraciones anatómicas de la cadera<sup>9, 51, 52</sup>. Una propuesta que en los últimos tiempos está cobrando más interés. Diversas variaciones en la anatomía normal del fémur proximal, acetábulo u off-set, supondrían un cambio en la distribución de cargas sobre la articulación que puede generar que distintas zonas reciban más peso que otras, con el consiguiente sufrimiento óseo y necrosis. Así, por ejemplo, *Ollivier et al.*<sup>51, 53</sup> determinan en un estudio reciente una serie de parámetros de

riesgo, como son: un ángulo de inclinación femoral  $>129^\circ$ , una anteversión femoral  $>17^\circ$ , una anteversión acetabular  $<19^\circ$  y ángulo de Wiberg  $<32^\circ$ . En dicho estudio al menos tres de estos factores estaban presentes en el 73% de los pacientes con ONCF y solo en el 11% de los casos control.

Es muy probable que la incapacidad para demostrar un camino común no sea más que el resultado, como en otras muchas enfermedades, de que realmente estamos ante un proceso multifactorial<sup>54, 55</sup>, en el que a una predisposición genética o inmunológica se le sumen uno o más factores de riesgo.

En cuanto a la evolución natural de la enfermedad sin tratamiento específico, los primeros estudios arrojaban cifras de progresión clínica y radiográfica del 77 al 98% y del 68 al 75%, respectivamente. Fue a partir de estos estudios cuando se estableció el carácter progresivo de la ONCF, instaurándose entre los dos y tres primeros años tras el inicio de los síntomas principalmente. Estudios más recientes tienen en cuenta mayor cantidad de parámetros tales como la localización de la lesión, el estadio o las pruebas de imagen, con el fin de conseguir una mayor fiabilidad de los resultados<sup>56-61</sup>. En 2010, *Mont et al.*<sup>62</sup> llevan a cabo una revisión de la bibliografía descrita hasta la fecha, reportando que 394 caderas (59%) de las 664 incluidas, progresan a una enfermedad sintomática o al colapso durante un seguimiento promedio de 88 meses. El tiempo medio de aparición de los síntomas fue de 39 meses. Estratificando por tamaño de lesión, el 84% de ONCF asintomáticas con afectación de 2/3 aproximados de la cabeza femoral sufrían progresión, mientras que solo el 25% de las que tenían lesiones menores avanzaban. Igualmente, aquellas lesiones de pequeño tamaño y localizadas medialmente eran las que mejor pronóstico tenían, con un riesgo menor del 10%.

### **1.1.5 Diagnóstico**

El diagnóstico temprano de esta enfermedad es de suma importancia, ya que la mayor efectividad de los tratamientos se obtiene en estadios precoces. El principal problema es que la presentación clínica es típicamente asintomática en estas fases y cuando la clínica se hace más florida, el cuadro suele estar en fases más avanzadas. Es por ello que la sospecha médica es importante y la presencia de uno o más factores de riesgo nos debe poner en alerta del problema.

- Sintomatología. A pesar de una presentación mayoritariamente asintomática, ciertos pacientes pueden debutar con dolor o molestias insidiosas en la región de la cadera, concretamente en la zona inguinal, con posible irradiación a la nalga o muslo ipsilateral. En ocasiones este dolor puede ocasionar incluso cojera.
- Exploración física. La disminución del rango de movimiento y el dolor con la movilización suele ser lo más llamativo, especialmente con la rotación interna, lo que podría indicar que ya existe colapso de la cabeza femoral. En fases más avanzadas el dolor puede aparecer no solo con la deambulación y la carga del miembro, sino en estado de reposo, llegando a presentar una marcha antiálgica. Maniobras como la de Ober y Thomas suelen ser negativas y poco específicas para esta patología. La de Fabere puede resultar positiva en estadios avanzados como consecuencia de la degeneración articular, y el test de FADDIR (flexión, aducción y rotación interna) sí puede ser positivo en estadios más precoces.
- Radiografías (Rx)<sup>11, 63-66</sup>. A pesar de no encontrar hallazgos valorables en estadios iniciales, son la primera prueba de imagen a evaluar ante la sospecha. Se deben solicitar Rx de ambas caderas en proyecciones AP y axial en posición de rana, ya que en ocasiones los márgenes acetabulares anterior y posterior pueden ocultar la zona más proximal de la cabeza femoral. Los primeros signos radiológicos que pueden aparecer son cambios esclerosos y quísticos en la cabeza femoral. Otros más específicos y que indican peor pronóstico son el signo de la media luna, característico de la existencia de fractura subcondral, así como la pérdida de esfericidad de la cabeza por colapso, el estrechamiento articular o cambios artrósicos en el acetábulo.



**Figura 2. Rx axial de cadera. Signo de la media luna.**

- Resonancia magnética<sup>11, 67-70</sup>. Ya considerada como la prueba de elección, ha sustituido en gran medida a la gammagrafía ósea con  $Tc^{99}$  por su mayor especificidad y sensibilidad, del 98 y 99% respectivamente, a la hora de detectar cambios fundamentalmente en fases precoces y aún no visibles en Rx. Se determina por señales de baja intensidad en T1, así como de baja o alta intensidad en T2, denominándose en caso de presentarse ambas a la vez como el signo de la doble línea, sinónimo de la existencia de una interfase entre tejido normal y tejido de granulación hipervascularizado característico del inicio de los cambios necróticos de la ONCF. Existe un estudio llevado a cabo por *May y Disler* en el año 2000<sup>71</sup>, para aquellos sitios en los que la disponibilidad de la RM era limitada, que demostraba que un seriado rápido de imágenes era igual de eficaz que realizar un protocolo de RM rutinario para el diagnóstico de ONCF.

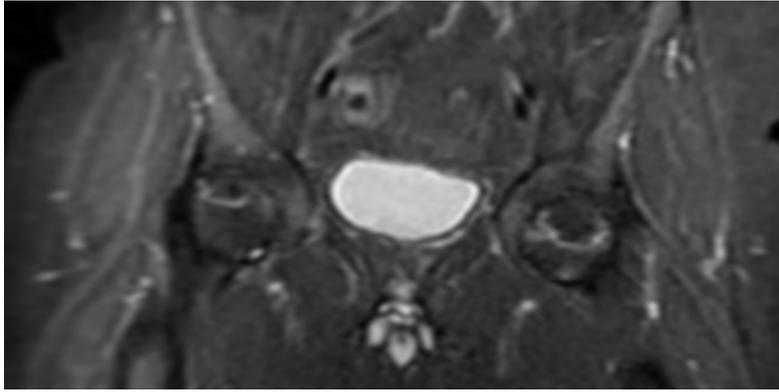


Figura 3. RM de caderas. Signo de la doble línea bilateral.

- Tomografía computerizada (TC). Su uso está menos extendido, y a pesar de permitir distinguir en fases precoces el estado precolapso y la fractura subcondral<sup>72</sup>, se prefiere el uso de la RM por su menor dosis de radiación y mayor sensibilidad. *Scheiber et al.*<sup>73</sup> ponía de manifiesto en un estudio de casos y controles de pacientes con ONCF, cómo en 30 caderas con una TC considerada normal, la RM hallaba signos de enfermedad incipiente en 22 de ellas.
- Otras tantas pruebas tales como la tomografía por emisión de positrones (PET), la venografía y la biopsia del núcleo central tienen unas indicaciones más restringidas, de poco uso en la actualidad por su carácter invasivo.

### 1.1.6 Sistemas de clasificación

Al hablar de sistemas de clasificación lo primero a mencionar es que aún no tenemos un sistema estándar y universal. Esto demuestra que existe algún inconveniente con cada uno de los que disponemos en la actualidad, y supone una gran dificultad para catalogar las lesiones según su extensión y/o localización de una forma unitaria. Todo ello conlleva una traba a la hora de tomar una decisión terapéutica, una evaluación pronóstica, o el simple consenso interobservador, además de la puesta en común de datos y protocolos para llevar a cabo diferentes estudios<sup>74-76</sup>. Dicho esto, pasaré a describir los cuatro sistemas de clasificación más utilizados, empleados en el 86,8% de los trabajos de investigación llevados a cabo desde 1985<sup>77</sup>:

- Ficat y Arlet<sup>78, 79</sup>. Descrita por sus autores en 1960, antes de la llegada de la RM, ha sido modificada al menos en cuatro ocasiones. Es la clasificación más utilizada hasta la fecha y se basa en Rx simples. Se divide en 4 fases: *fase 1*, indica imágenes normales, sin alteraciones visibles en las Rx de una cadera sintomática; *fase 2*, corresponde a una cabeza femoral con contorno normal pero con signos de remodelación ósea, tales como quistes o zonas esclerosas; *fase 3*, existe ya evidencia de fractura subcondral (signo de la media luna) con colapso, aplanamiento o pérdida de la esfericidad de la cabeza; *fase 4*, estrechamiento de la línea articular con cambios degenerativos también en acetábulo, como osteofitos o quistes. *Hungerford* describe una *fase 0*, que correspondería a una cadera silente, es decir, pre-clínica y pre-radiológica, que podría ser intuida en aquellos pacientes ya diagnosticados de la misma condición en la cadera contralateral y en las que los resultados de una biopsia o medición de la presión medular resultaría anormal. El principal problema de esta clasificación es que no permite una cuantificación de la extensión de la lesión, no pudiendo obtener una medición de la progresión de la enfermedad<sup>77</sup>.

**Tabla 1. Clasificación de Ficat y Arlet modificada.**

Estadio	Hallazgos radiográficos
<b>I</b>	Normal
<b>II</b>	Cambio de densidad en la cabeza femoral
<b>IIA</b>	Esclerosis o quistes
<b>IIB</b>	Signo de la media luna (fractura subcondral). No colapso de la cabeza
<b>III</b>	Aplanamiento o colapso de la cabeza
<b>IV</b>	Cambios artrósicos de la articulación

- Universidad de Pennsylvania<sup>80</sup>. *Steinberg* aumentó el espectro de los estadios de Ficat a seis, permitiendo un estadiaje en términos de tamaño de la lesión, extensión de la fractura subcondral y profundidad del colapso, al introducir ya datos a partir de RM. Así, encontramos igualmente una *fase 0*, pre-clínica y pre-radiológica; *fase 1*, demostraría una Rx normal con RM anormal; *fase 2*, presencia de áreas escleróticas y/o hipodensidades de la cabeza femoral; *fase 3*, caracterizada por el signo de la media luna; *fase 4*, la existencia de colapso y fractura subcondral que produciría un aplanamiento de la cabeza; *fase 5*, la presencia de cambios en acetábulo junto al colapso de la cabeza; *fase 6*, mostraría cambios degenerativos en toda la articulación. A su vez, *Steinberg* divide cada estadio en tres subapartados: *leve*, cuando existe una afectación menor del 15% de la cabeza femoral; *moderada*, con una afectación de entre el 15% y 30%; y *severa*, cuando la afectación es mayor del 30%. Es un sistema más preciso y reproducible, de mayor utilidad para describir la progresión radiológica y respuesta al tratamiento.

**Tabla 2. Clasificación de la Universidad de Pennsylvania (Steinberg).**

<b>Estadio</b>	<b>Hallazgos</b>
<b>0</b>	Rx y RM normal
<b>I</b>	Rx normal, RM con cambios patológicos
<b>IA</b>	<15% afectación cabeza
<b>IB</b>	15%-30% afectación cabeza
<b>IC</b>	>30% afectación cabeza
<b>II</b>	Cambios escleróticos
<b>IIA</b>	<15% afectación cabeza
<b>IIB</b>	15%-30% afectación cabeza
<b>IIC</b>	>30% afectación cabeza
<b>III</b>	Fractura o colapso subcondral sin aplanamiento de la cabeza femoral (signo de la media luna)
<b>IIIA</b>	<15% afectación cabeza
<b>IIIB</b>	15%-30% afectación cabeza
<b>IIIC</b>	>30% afectación cabeza
<b>IV</b>	Aplanamiento y colapso de la cabeza femoral
<b>IVA</b>	<15% afectación cabeza y <2 mm de colapso
<b>IVB</b>	15%-30% afectación cabeza o 2-4 mm de colapso
<b>IVC</b>	>30% afectación cabeza
<b>V</b>	Estrechamiento de la línea articular +/- afectación acetabular
<b>VI</b>	Cambios artrósicos avanzados

- Association Research Circulation Osseous (ARCO)<sup>81</sup>. Al igual que su predecesora, supone una evolución del anterior sistema. Usada a partir de los años 90 en distintos encuentros de sociedades médicas, esta clasificación presenta los mismos estadios que el sistema de *Steinberg* pero incluye otro parámetro, que es el de localización (tercio medial, tercio central o tercio lateral de la cabeza femoral), por lo que podría suponer un añadido con respecto a los sistemas previos. Este será el sistema de clasificación utilizado para el presente estudio.

Tabla 3. Clasificación de ARCO.

Estadio	Hallazgos	Según localización lesión
<b>0</b>	Rx y RM normal	
<b>I</b>	Rx normal, RM con cambios patológicos	
<b>IA</b>	<15% afectación cabeza	
<b>IB</b>	15%-30% afectación cabeza	
<b>IC</b>	>30% afectación cabeza	
<b>II</b>	Cambios escleróticos	
<b>IIA</b>	<15% afectación cabeza	Medial
<b>IIB</b>	15%-30% afectación cabeza	Central
<b>IIC</b>	>30% afectación cabeza	Lateral
<b>III</b>	Fractura, colapso subcondral o aplanamiento de la cabeza femoral (signo de la media luna)	
<b>IIIA</b>	<15% afectación cabeza	
<b>IIIB</b>	15%-30% afectación cabeza	
<b>IIIC</b>	>30% afectación cabeza	
<b>IV</b>	Cambios artrósicos incluyendo acetábulo	

- Sistema de la Asociación Japonesa de Ortopedia<sup>82, 83</sup>. Descrita en 1987 por el Comité de Investigación Japonés de Necrosis Avascular y modificada en 2001<sup>84</sup>. Este sistema asume que la lesión progresa de medial a lateral a medida que aumenta su tamaño y por tanto no categoriza lesiones pequeñas en el centro de la cabeza femoral, las cuales son relativamente frecuentes, y, por el contrario, pequeñas lesiones mediales que raramente aparecen, sí se contemplan. Tampoco incluye una categoría para el estadio pre-radiológico o para el avanzado, en el que ya aparece afectación acetabular. Rara vez se utiliza este sistema fuera de Japón.

**Tabla 4. Clasificación del Comité de Investigación Japonés.**

Estadio	Hallazgos radiográficos
<b>I</b>	Cambios escleróticos delimitados
<b>IA</b>	Un tercio medial de la superficie de carga articular
<b>IB</b>	Dos tercios mediales de la superficie de carga articular
<b>IC</b>	Más de dos tercios de la superficie de carga articular
<b>II</b>	Aplanamiento de la cabeza femoral
<b>III</b>	Lesiones quísticas
<b>IIIA</b>	Zona medial de la cabeza femoral
<b>IIIB</b>	Zona lateral de la cabeza femoral

### 1.1.7 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico de ONCF no resulta difícil, pero siempre es importante distinguirlo de una serie de patologías que podrían asemejarse en distintas circunstancias:

- Síndrome de edema óseo transitorio de cadera. Antes conocido como *osteopenia transitoria*, se trata de una entidad poco frecuente que debuta con dolor en la cadera sin historia de trauma o actividad física. Lo más característico de esta patología es su inicio súbito y desaparición en 5-12 meses sin necesidad de tratamiento quirúrgico. Además, la afectación es unilateral en más del 90%. La distinción con respecto a la ONCF se hace mediante RM, donde aparecerá un amplio edema en el fémur proximal, que incluye cabeza, cuello y zona intertrocanterica, mientras que la distribución típica en la ONCF es focal, en la cabeza femoral o zona subcondral<sup>85</sup>. Asimismo, no aparecerán señales lineales de baja intensidad en T1 ni señales homogéneas de alta intensidad en T2, características de la ONCF<sup>86, 87</sup>. Su patogenia aún se discute e incluso ciertos autores lo consideran una osteonecrosis reversible.
- Fractura subcondral por estrés. Se presenta igualmente de un modo súbito con dolor en una única cadera, normalmente en personas de edad avanzada, resultado de un trauma poco importante<sup>88</sup>. Íntimamente relacionado con la fragilidad ósea,

suele ser secundario a osteoporosis u osteopenia, o manifestarse en pacientes trasplantados. Para distinguirlo de la ONCF nos valdremos de la misma manera de la RM. En ésta, las líneas de baja intensidad en T1 suelen ser de carácter irregular, discontinuas, paralelas o convexas al cartílago articular; al contrario que en la ONCF en la que dichas bandas suelen ser suaves, bien delimitadas y cóncavas<sup>89, 90</sup>. En muchas ocasiones no resulta fácil esta diferenciación, pero la inexistencia de factores de riesgo clásicos de osteonecrosis o la edad más avanzada pueden hacer decantarnos en el diagnóstico. El hecho más coincidente de estas dos patologías es que la probabilidad de que progresen a artrosis degenerativa es alta.

- Procesos tumorales. Indiscutiblemente es muy importante distinguir una afección de una enfermedad que pueda tener un desenlace fatal. Por ello, dentro del diagnóstico diferencial debemos tener en cuenta el condrosarcoma de células claras (CCC), un infrecuente subtipo de condrosarcoma que afecta mayoritariamente a epífisis de huesos largos en personas mayores. Las Rx muestran lesiones líticas en la cabeza femoral con un margen esclerótico pobremente diferenciado. En la RM la lesión es característicamente heterogénea y presenta una señal baja-intermedia en T1 sin edema medular reactivo. Por otro lado, está el condroblastoma, de carácter benigno, que también aparece como una lesión radiolúcida en la epífisis fácilmente distinguible. Más común en adultos jóvenes o adolescentes.

## 1.2 Abordajes terapéuticos

Como ya sabemos, la ONCF es una enfermedad que afecta preferentemente a personas de edad media, y en una gran proporción progresa hasta producir cambios artrósicos, que acaban requiriendo la sustitución completa de la articulación debido a la clínica tan invalidante que produce. El objetivo del tratamiento consiste, básicamente, en conseguir el alivio del dolor, pero sabemos que cumplir dicho propósito no resulta sencillo la mayoría de las veces sin un tratamiento agresivo. En fases iniciales, el cirujano puede

optar por intentar mantener una cadera congruente y evitar, o al menos, retrasar, la necesidad de una prótesis total de cadera. Al tener como pacientes, en general, personas jóvenes en edad activa, la mayoría de los autores promulgan por aplicar procedimientos no invasivos que permitan el mantenimiento de la cabeza femoral viable, aunque en un futuro, el reemplazo articular acabe llevándose a la práctica. Son numerosos los tratamientos que se han venido realizando hasta la fecha, pudiendo aplicarse según el estadio de la enfermedad. Por tanto, para una correcta toma de decisión de las medidas terapéuticas a aplicar, es necesario basarnos en una serie de parámetros clínicos y radiográficos que permitan perfeccionar un tratamiento individualizado para cada paciente.

Podemos categorizar los tratamientos en medidas conservadoras, aplicables fundamentalmente en fases iniciales de la enfermedad; o medidas quirúrgicas, ya en fases más avanzadas.

### **1.2.1 Tratamiento conservador**

Sigue existiendo gran controversia en cuanto al tipo de tratamiento a seguir en aquellas ONCF en fase precolapso y asintomáticas. Las medidas no quirúrgicas incluyen medidas de terapia física y agentes farmacológicos. El objetivo en esta fase es conseguir mejorar la función de la cadera, disminuir el dolor, prevenir la progresión radiológica a una fractura subcondral o colapso, y permitir la curación de las lesiones necróticas. Tienen la ventaja de que su uso no limita un ulterior tratamiento de otra índole, y pueden ser además utilizadas como coadyuvantes. Pero a pesar de estas nociones, debemos saber que, hasta la fecha, no existe ningún tratamiento conservador que demuestre por unanimidad en estudios, una reversión de la ONCF<sup>62</sup>.

### **1.2.1.1 Medidas de terapia física**

#### **1.2.1.1.1 Descarga del miembro**

La restricción de la carga de peso con el miembro afecto ya sea con bastón, muletas, andador o silla de ruedas, parece tener dudosa utilidad como medida terapéutica según diversos estudios. En estadios precoces de la ONCF, cuando la lesión de la cabeza femoral es menor del 15%, puede suponer un alivio sintomático. También se ha descrito que no existen diferencias significativas en cuanto al grado de restricción de la carga, siendo similares los resultados para una carga parcial o total<sup>62</sup>. Cabe destacar que en pleno siglo XXI, esta modalidad no puede ser aceptada como medida aislada de tratamiento, debiendo ejercer únicamente como elemento adicional a otro tipo de tratamiento médico o quirúrgico.

#### **1.2.1.1.2 Ondas de choque extracorpóreas**

El interés en el uso de ondas de choque extracorpóreas (OCE) para la ONCF, nace del descubrimiento incidental de observar un aumento de la densidad ósea en pacientes que fueron tratados para la disolución de cálculos renales<sup>91</sup>, y en otros estudios más adelante, al observarse la consolidación definitiva de pseudoartrosis postraumáticas. Las OCE son ondas acústicas de enorme presión y velocidad. Pueden atravesar fluidos y tejidos blandos, y sus efectos ocurren en lugares donde existe un cambio de impedancia, tales como la interfase hueso-tejido blando. De este modo, cuando las ondas son dirigidas hacia el hueso afecto, se produce el depósito de energía de la onda en la zona hueso sano-tejido necrótico. Este depósito parece ser el responsable del aumento de la neovascularización, estimulando la expresión de factores de crecimiento angiogénicos y osteogénicos, así como del alivio del dolor. Hasta ahora los datos obtenidos se saben favorables, pero limitados<sup>92</sup>.

#### **1.2.1.1.3 Magnetoterapia**

El uso de la magnetoterapia también ha sido desarrollado en estudios animales y humanos. Según las últimas publicaciones al respecto, los mecanismos teóricos de acción

de la magnetoterapia serían dos, su papel como importante mediador del control local de la inflamación; y más en particular, la prevención de la degeneración del cartílago articular. Su actividad se basa en el incremento de la disponibilidad de receptores A<sub>2A</sub> adenosina situados en la membrana celular de neutrófilos, ejerciendo un potente papel antiinflamatorio, que, acompañado de una disminución de la producción de radicales libres, inhibe los efectos catabólicos de las citoquinas inflamatorias en el cartílago articular y estimula la síntesis de proteoglicanos, deteniendo la progresión de la artritis *in vivo*. De este modo, favorecería la recuperación de ciertas lesiones femorales, estimulando de manera similar a como lo hacen las OCE, la angiogénesis y la formación de hueso nuevo, propiciando así, el control del dolor y conservación de la cabeza femoral<sup>93, 94</sup>. A pesar de ello, su eficacia no está del todo demostrada.

#### **1.2.1.1.4 Oxígeno hiperbárico**

El oxígeno hiperbárico (OH) se basa en la inspiración de oxígeno a altas presiones produciendo un aumento de oxígeno disuelto en plasma y saturando el fluido extracelular, lo que promueve una mejor oxigenación de las células óseas isquémicas, independientemente de la hemoglobina circulante y sin la necesidad de la energía requerida para la disociación del oxígeno de la hemoglobina<sup>95, 96</sup>. El proceso de administración consiste básicamente en meter al sujeto en una cámara hiperbárica y colocarle una máscara de aire por la cual recibe oxígeno comprimido a 2.5 atmósferas durante unos 80 minutos aproximadamente. Esta modalidad de tratamiento estaría indicada para estadios iniciales, I y II, fundamentalmente en sujetos jóvenes; y tiene la ventaja de poder ser utilizado en combinación con otro tipo de tratamiento. Aún falta por estudiar el sistema en su totalidad.

#### **1.2.1.2 Tratamiento farmacológico**

##### **1.2.1.2.1 Bifosfonatos**

Los bifosfonatos inhiben la actividad osteoclástica disminuyendo la tasa de remodelación en la cabeza femoral y el edema. Esto incrementaría la densidad mineral ósea y retrasaría así la progresión hacia el colapso óseo. El bifosfonato mejor estudiado en ensayos clínicos

en seres humanos ha sido el alendronato. Su eficacia está probada en fases precoces de la ONCF, aunque la mayoría de estudios tienen poca potencia y sin la posibilidad de comparar con un grupo control. La dosis requerida y duración de la terapia sigue sin estar claramente definida. Según la evidencia actual, podrían usarse dosis de 70 mg semanalmente durante 3 años en estados I, II y III de ARCO. Los estudios con una mayor duración de seguimiento con alendronato demuestran una mejoría de la función y mantenimiento de la esfericidad de la cabeza del 92% y 87% con un seguimiento de 4 y 10 años, respectivamente<sup>97, 98</sup>. Sin embargo, un nuevo estudio nivel-I multicéntrico, randomizado y controlado no encontró beneficios respecto al placebo en cuanto a progresión radiográfica y finalización en cirugía protésica<sup>99</sup>. Se han descrito casos de necrosis mandibular y fracturas subtrocantéreas con el uso prolongado de estos medicamentos. Con estas limitaciones y potenciales efectos adversos, el tratamiento quirúrgico sigue manteniéndose como una opción más segura.

#### **1.2.1.2.2 Iloprost**

El Iloprost es un medicamento análogo de la prostaciclina que inhibe la agregación plaquetaria, dilata arteriolas y vénulas, disminuye la permeabilidad vascular y activa la fibrinólisis. Se administra como infusión intravenosa (iv) o por inhalación por nebulización. Su uso en la ONCF se basa en la capacidad que presenta este fármaco para disminuir el edema óseo al reducir la presión hidrostática en ramas terminales de capilares y vénulas, lo que influiría en el equilibrio de fluidos entre tejido intersticial y sistema circulatorio hacia una mayor absorción. Mediante la regulación de la función endotelial, se previene la recurrencia del edema al favorecer la circulación de la sangre<sup>100</sup>, siendo la causante del alivio sintomático y relativa mejora funcional que se ha visto en distintos estudios<sup>101</sup>.

#### **1.2.1.2.3 Enoxaparina**

De entre los anticoagulantes, las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) son las más utilizadas en nuestro medio, y más concretamente, la enoxaparina. Tiene la capacidad de actuar inhibiendo la agregación plaquetaria, al poseer elevada actividad anti-Xa y débil actividad antitrombínica, mediadas por la antitrombina III. De ese modo, puede actuar

aumentando el flujo sanguíneo en zonas óseas isquémicas o necróticas, evitando también la trombosis venosa que causa la reducción del flujo arterial y la consiguiente hipoxia celular. Existen estudios como el de *Glueck et al.*<sup>102</sup>, que observaron que en 19 de 20 ONCF en estadios Ficat I y II, no hubo progresión con la administración de 60 mg/día durante 3 meses de enoxaparina tras un seguimiento de 2 años. Así pues, parece que los anticoagulantes podrían retrasar o incluso prevenir la progresión de la enfermedad en fases precolapso. No obstante, los estudios hasta la fecha son escasos y de pequeño tamaño.

#### 1.2.1.2.4 Estatinas

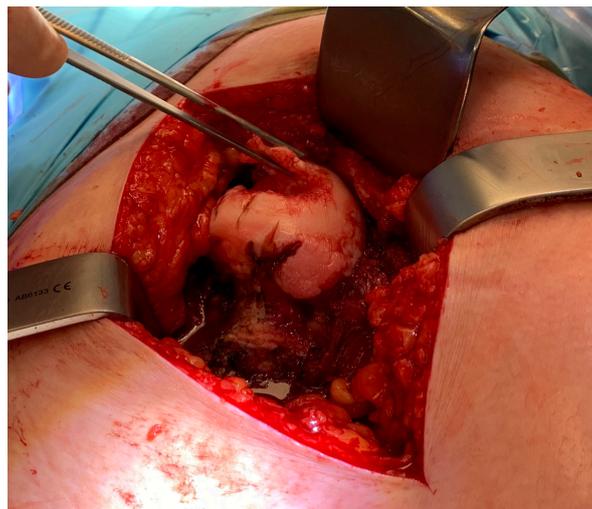
Las estatinas son los fármacos hipolipemiantes por excelencia, y uno de los grupos farmacológicos más prescritos en el mundo. El efecto antilipídico radica en su capacidad de reducir la biosíntesis intracelular hepática del colesterol y la concentración en plasma de lipoproteínas de baja densidad (cLDL) mediante la inhibición competitiva, parcial y reversible, de la enzima hepática 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, que cataliza la conversión de la HMG-CoA a mevalonato, precursor del colesterol. Estudios *in vitro* animal han demostrado disminuir el tamaño de adipocitos de la médula ósea y reducir potencialmente la presión intraósea en la cabeza femoral, efecto antiadipogénico y proosteoblástico. Estos efectos protegerían contra la ONCF inducida por corticoesteroides, que provocan hiperlipidemia e incremento del contenido graso en la cabeza femoral, aumentando la presión intracortical y llevando a un colapso de la circulación sinusoidal y consiguiente osteonecrosis<sup>103</sup>. Sin embargo, los datos clínicos hasta la fecha son algo contradictorios.

La elección entre los diversos agentes farmacológicos se basa en los conocimientos actuales de la fisiopatología de la osteonecrosis y de cómo afecta particularmente a cada paciente. Por ejemplo, un paciente con hipercolesterolemia e hiperlipidemia como principal factor de riesgo asociado, puede beneficiarse especialmente del tratamiento con fármacos hipolipemiantes. En un paciente con hipertensión secundaria a patología renal, debe considerarse el tratamiento con antihipertensivos o vasodilatadores. Los pacientes con trastornos de la coagulación hereditarios, deberán recibir tratamiento anticoagulante. Es evidente, por tanto, que estos métodos requieren la identificación de los distintos

factores de riesgo individuales de cada paciente en enfermedad precolapso, pues sería cuanto menos controvertido, pensar que el tratamiento farmacológico pueda ser útil en sujetos que ya han presentado colapso de la cabeza femoral por el inherente compromiso biomecánico.

### 1.2.2 Tratamiento quirúrgico

Actualmente no existe un consenso que determine qué tratamiento quirúrgico llevar a cabo según el estadio de la enfermedad. En un informe reciente que recogía la actividad de 753 miembros de la Sociedad Americana de Cirujanos de Cadera y Rodilla<sup>104</sup>, se observó que el reemplazo total de cadera era la intervención más común para el tratamiento de la ONCF en fase postcolapso, mientras que la descompresión del núcleo era el procedimiento más utilizado para la fase sintomática precolapso. Otros tratamientos menos frecuentes incluyen injertos óseos vascularizados y no vascularizados, hemiartroplastia, osteotomías y artrodesis. La ONCF tiende a afectar a pacientes jóvenes, por ello se han desarrollado numerosos procedimientos que preservan la articulación, para intentar retrasar la progresión de la enfermedad y disminuir el dolor.



**Figura 4. Imagen intraoperatoria del colapso y fractura subcondral de la cabeza femoral.**

El tratamiento quirúrgico de la ONCF puede ser dividido a mi entender en dos grandes grupos: procedimientos de salvamento de la cabeza femoral (PSCF) y procedimientos de reemplazo articular (PRA). En general, los primeros están indicados para fases precolapso con mínima sintomatología, mientras que los segundos se reservan para fases postcolapso sintomáticas.

### 1.2.2.1 Procedimientos de salvamento de la cabeza femoral

#### 1.2.2.1.1 Descompresión del núcleo (DN)

El uso del brocado, perforación o tunelización del hueso como medida terapéutica no es algo nuevo. Ya emergió esta idea tras su utilización por *Brodie*<sup>105</sup> en 1832 para drenar abscesos óseos aislados mediante tunelización, y fue utilizado en adelante por numerosos autores para el tratamiento de diversas patologías como la cadera tuberculosa, abscesos epifisarios, osteítis del fémur proximal, o incluso como tratamiento para la pseudoartrosis de huesos largos o la exéresis de áreas necróticas en la enfermedad de Perthes, popularizados estos por *Brainard*<sup>106</sup> en 1854 y *Phemister*<sup>107</sup> en 1921, respectivamente. *Bozsan*<sup>108</sup> en 1941 continúa los estudios realizados por autores previos. Se basa en las perforaciones como método para suplantar el hueso muerto y favorecer el crecimiento del nuevo así como la irrigación sanguínea de la zona. Trata así pacientes que tenían en común la presencia de áreas necróticas en el fémur: casos de Perthes, osteocondritis disecante tras fracturas del cuello femoral, epifisiolisis femoral proximal, artritis deformante y artrosis evolucionadas, entre otros, reportando buenos resultados radiográficos y clínicos. Pero fueron *Ficat y Arlet*<sup>109</sup> quienes, desde 1964 y por primera vez, se centran en este tipo de tratamiento como norma para el manejo de las ONCF. Los franceses reportan en 1971 un estudio de 100 casos confirmados histológicamente, en los que reproducen su llamado “*forage-biopsia cervicocapital*”, posteriormente popularizado por *Hungerford* como DN<sup>78</sup>, y arroja, para estadios iniciales, resultados tales como una supresión o reducción del dolor en el 83%, un aumento de la movilidad articular en el 43% y una estabilización radiológica del cuadro en un 77%<sup>110</sup>.

Esta técnica se convirtió pronto en referente para el tratamiento de la ONCF, auspiciada por resultados prometedores. La DN ha sido considerada como la técnica más costo-efectiva y con menor tasa de complicaciones, pero el éxito de este procedimiento es

altamente dependiente de la etiología del cuadro y de parámetros radiográficos como son el tamaño de la lesión, su localización y la existencia de colapso. Actualmente es la técnica quirúrgica más utilizada como tratamiento precoz de la ONCF. Su fundamento se basa en la disminución de la presión intraósea causada por la congestión venosa de la cabeza, que permite incrementar el flujo sanguíneo en el área necrótica y favorecer de este modo, la formación de hueso nuevo.

### Indicaciones

- Se ha propuesto para lesiones de pequeño y mediano tamaño, estadios I y II ARCO, donde se mantiene el contorno estructural de la cabeza femoral.

Generalmente el caso típico es aquel en el que la Rx muestra lesiones escleróticas y quísticas; o el que presenta lesiones sintomáticas y hallazgos apreciables únicamente en RM. Se han demostrado mejores resultados cuando existe un predominio escleroso.

### Técnica quirúrgica

El método clásico y habitual es la realización de *una única perforación*. Se procede a la colocación del paciente en decúbito supino o lateral en la mesa de quirófano. Se realiza un abordaje de unos 2-3 cm centrado sobre la región subtrocantérica. Utilizando una aguja guía y un amplificador de imagen, se introduce la aguja hacia el centro de la lesión ósea en la cabeza femoral. Una vez comprobada la correcta colocación y sirviéndonos de la guía, introducimos una fresa-trépano de entre 8-10 mm hasta alcanzar la lesión. Más recientemente se ha descrito una *técnica de perforación múltiple* como método alternativo para la DN. El sistema es el mismo, solo que se realiza con agujas de menor diámetro, dos perforaciones para lesiones pequeñas y tres para aquellas más grandes<sup>111</sup>.

En el postoperatorio de esta intervención, será necesario el mantenimiento en descarga del miembro y la progresiva carga según tolerancia hasta la práctica de una vida cotidiana aproximadamente a partir de la sexta semana de la intervención.

### Complicaciones<sup>99</sup>

La tasa de complicaciones para este proceso es bastante baja, menor del 5% en todas las revisiones, y tampoco supone un impedimento para la realización de una posible artroplastia futura.

- Debilitamiento de la cabeza y zona subcondral, por el defecto óseo remanente.
- Lesión del cartílago articular durante el fresado.
- Fractura subtrocantérica (<3%), si el punto de entrada se realiza demasiado bajo en la zona metafisaria.

#### **1.2.2.1.2 Implante de tantalio**

Su uso viene determinado por la existencia de estudios en los que se observaba que el tantalio producía un rápido crecimiento óseo en animales. El tantalio poroso es un biomaterial con unas características específicas. Tiene una alta densidad de porosidad (mayor del 80% del volumen), repleto de poros interconectados que permiten el crecimiento óseo, lo que se conoce como microtextura osteoconductora. Además, posee un módulo elástico similar al del propio hueso medular, lo que minimiza las fuerzas de estrés y evita el colapso subcondral, a la vez que ofrece suficiente dureza como para soportar las cargas fisiológicas de la articulación. Su uso combinado junto a la DN para el tratamiento de la ONCF, provee un soporte estructural al hueso subcondral y evita la morbilidad asociada de otros métodos como los injertos óseos<sup>112</sup>. Como contrapartida, en estudios histopatológicos más recientes se afirma que este crecimiento óseo es más bajo del esperado, y que el soporte mecánico tampoco es suficiente para las demandas.

#### Indicaciones

- Fases iniciales precolapso, estadios I y II ARCO.

En la actualidad poco utilizado debido a la falta de evidencia.

#### Técnica quirúrgica

Similar a la DN. Se coloca al paciente en decúbito supino o lateral, se realiza una incisión longitudinal de 2-3 cm aproximadamente y se introduce una aguja guía hasta la zona necrótica de la cabeza femoral mediante control fluoroscópico, típicamente en la zona anterosuperior. Una vez situada correctamente, se introduce el tornillo de tantalio de 10 mm de diámetro hasta la zona subcondral, para prevenir el colapso.

En el postoperatorio el paciente se mantendrá, igualmente, en descarga progresiva durante las primeras seis semanas, realizando ejercicios de rehabilitación durante ese periodo.

Complicaciones<sup>113</sup>

- Infección.
- Mayor dificultad en caso de realizar una artroplastia total posterior, debido a la necesidad de extracción del implante.
- Depósito de restos metálicos en tejido adyacente y articulación.

**1.2.2.1.3 Injerto óseo no vascularizado**

El injerto óseo no vascularizado (IONV) nace de la idea de conseguir un soporte óseo subcondral y del cartílago articular subyacente, tras la eliminación del tejido necrótico y la descompresión central de la cabeza femoral. Las propiedades osteoconductoras y osteoinductoras del injerto favorecen la regeneración y remodelado del defecto óseo. Generalmente se utiliza autoinjerto de tibia, y auto o aloinjerto de peroné, tanto de hueso esponjoso como cortical<sup>114</sup>.

Indicaciones

- Estadios precoces, I y II ARCO, donde aún no ha habido colapso.
- Estadio III, mientras el colapso sea menor de 2 mm.
- Cuando la DN falla.

Técnica quirúrgica<sup>115</sup>

Existen tres grandes métodos que se han utilizado para alojar el IONV en la cabeza femoral:

- A través del túnel creado por una DN (técnica de Phemister)*. Utilizando la técnica descrita anteriormente para la DN, y a través del trayecto, creamos un molde de injerto cortical que introducimos.
- Creando una ventana en la cabeza femoral (técnica de la trampilla)*. A través del cartílago articular se crea un colgajo que se levanta para exponer el hueso subyacente de la cabeza femoral, se desbrida la lesión necrótica y la cavidad se rellena con hueso esponjoso, cortical o una combinación de ambos. Posteriormente el colgajo articular se mantiene en su sitio con un tornillo reabsorbible.

- c) *Creando una ventana en el cuello femoral o en la unión cuello-cabeza (técnica de la bombilla).* Para evitar penetrar la lesión a través del cartílago articular, puede practicarse una ventana en la base de la cabeza o en la zona de unión con el cuello. El área necrótica se extrae utilizando cucharillas o buriles e implantando entonces el injerto en el defecto.

La colocación del injerto a través de la lesión necrótica o de la zona de transición entre hueso necrótico y normal, no ha mostrado diferencias en los resultados finales; pero sí el tipo de injerto utilizado, considerándose el autoinjerto de tibia, a fecha de hoy, el que más garantías ofrece. De la misma manera, se recomienda de manera generalizada, que el injerto sea situado próximo al hueso subcondral, más cercano a la parte lateral de la cabeza.

En cuanto al postoperatorio se recomiendan seis semanas de descarga total, y a partir de entonces empezar con carga parcial o al 50% en las siguientes seis semanas, según tolerancia.

### Complicaciones

- Proceso más complejo que precisa de mayor habilidad quirúrgica.
- Intervención más prolongada, con el consiguiente mayor riesgo de infección.
- Morbilidad de la zona donante.
- Riesgo de lesionar el cartílago articular de la cabeza.
- Riesgo de producir una fractura del cuello femoral durante el procedimiento.

#### **1.2.2.1.4 Injerto óseo vascularizado**

El injerto óseo vascularizado (IOV) fue un procedimiento que empezó a popularizarse en los años 70, coincidiendo con el surgimiento de las técnicas de microcirugía y tras presumirse que el IONV no restauraba adecuadamente la circulación del defecto. El IOV se basa en cuatro fundamentos: la descompresión de la cabeza femoral, interrumpiendo de esta manera el ciclo de isquemia e hipertensión intraósea que parece contribuir a la enfermedad; la resección del fragmento secuestrado, que puede inhibir la revascularización femoral; el relleno del defecto creado con injerto esponjoso osteoinductor e injerto cortical estructural viable, para sostener la superficie subcondral y favorecer el proceso de revascularización; y la protección de la zona en consolidación,

mediante un periodo de apoyo en carga limitado. Pacientes fumadores, bebedores regulares o con patología vascular deben ser estudiados minuciosamente antes de realizar esta técnica, ya que la anastomosis vascular puede verse afectada.

### Indicaciones

- Estadios I-III ARCO, fases precolapso o colapso precoz. Una vez se produce el colapso, los resultados se empobrecen bastante.
- Lesiones con <50% de afectación de la cabeza femoral.
- Preferentemente menores de 50 años.

### Técnica quirúrgica<sup>116</sup>

Mediante un abordaje anterolateral de la cadera, se expone la porción lateral del fémur proximal, a través del espacio entre el músculo tensor de la fascia lata y glúteo medio. Se identifican la arteria y vena circunfleja femoral lateral, y se aíslan las ramas ascendentes para que sirvan como vasos receptores. Con control radioscópico y al igual que en procesos anteriores, se procede a introducir una guía hasta la lesión necrótica, y posteriormente con fresas canuladas, creamos una cavidad central de unos 16-21 mm de diámetro. Resecamos las zonas necróticas de la cabeza femoral e introducimos en su lugar hueso esponjoso, obtenido previamente del trocánter mayor. Al mismo tiempo, y por un segundo equipo quirúrgico, se procede a la obtención de un segmento de tibia/peroné ipsilateral, en caso de injerto autólogo, de unos 13 cm aproximadamente de longitud, con un pedículo de arteria y vena. Una vez obtenido el IOV, lo insertamos a través del trayecto femoral y lo estabilizamos con una aguja Kirschner. Se procede entonces a la anastomosis microscópica arterial y venosa.

Existen otras variantes en cuanto a injertos vascularizados. Las más utilizadas después de IOV de peroné es el injerto óseo con pedículo muscular, en su mayoría obtenido del *quadratus femoris* posteriormente, o del tensor de la fascia lata anteriormente; y el IOV de cresta ilíaca, perfundido por la arteria circunfleja ilíaca profunda.

Para el periodo postoperatorio de esta intervención, la mayoría de autores colocan tras la cirugía, una férula hasta la zona proximal de la rodilla durante tres días por prevención, en caso de obtención del fragmento de peroné. Igualmente, para favorecer el flujo sanguíneo de las anastomosis, se administra algún tipo de anticoagulante durante un periodo de seis semanas. La carga no se autoriza hasta transcurridas un mínimo de seis

semanas desde la cirugía. A partir de entonces, se comenzaría con carga parcial las siguientes seis semanas, y durante los tres meses siguientes se va aumentando hasta alcanzar la normalidad a partir del sexto mes.

### Complicaciones<sup>117</sup>

- Alta complejidad. Precisa además de dos equipos quirúrgicos, uno para la preparación del fémur y otro para la obtención del injerto.
- Intervención prolongada, aumento del riesgo de infección.
- Morbilidad de la zona donante: debilidad motora, discomfort subjetivo en el tobillo, alteraciones de la sensibilidad...
- Fractura del cuello femoral.
- Incremento de la dificultad en caso de realizar una artroplastia de cadera posterior.

#### **1.2.2.1.5 Osteotomía femoral proximal**

En 1978, *Sugioka*<sup>118</sup> describió una osteotomía rotacional transtrocantérica de la cabeza femoral para esta patología. El fundamento de la osteotomía femoral proximal (OFP) es transponer la parte anterosuperior necrótica de la cabeza femoral a una localización en la que no soporte carga. Para ello, se rotan en sentido anterior la cabeza y el cuello del fémur a lo largo de su eje longitudinal, de manera que la fuerza del peso se transmita a lo que antes correspondía a la superficie articular posterior de la cabeza femoral, no afectada por el proceso isquémico<sup>119</sup>. Pero los resultados tan prometedores obtenidos en países asiáticos no se han asemejado a los obtenidos en Europa y Estados Unidos. No se considera un método estándar de manejo de la ONCF en nuestro medio.

### Indicaciones

- Estadios ARCO I, II y III.
- Edad menor a 45 años.
- Afectación de la cabeza femoral <30% o ángulo necrótico combinado <200°. Se sabe que el tamaño de la lesión es un factor pronóstico muy importante para el éxito de la osteotomía.
- No uso crónico de corticoides.

Técnica quirúrgica<sup>120</sup>

Existen dos tipos de procedimientos que se pueden realizar:

- a) *Osteotomía transtrocanterica rotacional*. Realizando la rotación anterior o posterior de la cabeza para transponer el área osteonecrótica de una zona de carga de peso a otra sin carga. Permite gran variación de ángulos de translación.
- b) *Osteotomía intertrocanterica varizante o valguizante*. Usualmente combinada con flexión o extensión del fragmento proximal. Menos exigente que la anterior. Es la más utilizada en Europa.

Presenta un postoperatorio muy similar al del IOV, con carga restringida entre los tres y seis primeros meses postquirúrgicos.

Complicaciones<sup>121</sup>

La tasa de complicaciones es relativamente alta debido a la complejidad del proceso.

- Necesidad de un cirujano con suficiente experiencia, debido a la alta dificultad del proceso.
- Colapso secundario de la cabeza femoral.
- Retraso de la consolidación.
- Pseudoartrosis.
- Fractura proximal de fémur.
- Infección del material de osteosíntesis.
- Mayor complejidad ante una artroplastia de cadera posterior, por deformación de la parte proximal del fémur, así como por la dificultad para la retirada del material de fijación. Se estima alrededor de un 17% de complicaciones intraoperatorias durante el proceso.

**1.2.2.2 Procedimientos de reemplazo articular****1.2.2.2.1 Artroplastia de superficie, total y parcial**

La artroplastia de superficie (AS) es una opción a considerar en pacientes jóvenes con una lesión precolapso extensa o postcolapso sin marcado compromiso acetabular. Este procedimiento presenta una serie de ventajas: el cartílago articular dañado de la superficie

de la cabeza femoral se elimina, el stock óseo tanto de la cabeza como del cuello femoral se preserva, y, en caso de ser necesaria una posterior ATC no complica la intervención. La AS se basa, por tanto, en la máxima conservación de hueso posible. Es considerado un proceso para prolongar la estabilidad clínica, mediante la mejora de la función y la sintomatología, hasta que el proceso degenera y hace necesaria definitivamente la ATC<sup>122</sup>. La AS parcial, al igual que la artroplastia parcial de cadera, se usa raramente debido a que la presión de carga de una superficie de metal sobre el cartílago acetabular es mal tolerado y el índice de revisión parece ser mayor<sup>123</sup>. En consecuencia, la más empleada es la AS total, con ambos componentes metálicos.

### Indicaciones

- Estadios III de ARCO.
- Colapso de la cabeza femoral >2 mm.
- Ángulo necrótico combinado >200°, o área de lesión >30%.
- No afectación acetabular, o mínima en las metal-metal.

### Técnica quirúrgica<sup>124</sup>

El abordaje quirúrgico se realizará según la experiencia del cirujano. Normalmente se realiza una vía posterior y la principal diferencia respecto a la de una ATC es que es necesario luxar la cabeza femoral sin llevar a cabo la osteotomía del cuello. Se inserta el pin guía a través de la cabeza femoral y procedemos a la limpieza y retirada de zonas cavitadas o necróticas. A partir de ahí, se comienza con una fresa cilíndrica adaptada a cabeza femoral, y empezando por un tamaño mayor vamos disminuyendo hasta que el fresado llegue a la unión cabeza-cuello femoral. En caso de realizar una AS total, exponemos el acetábulo y, a modo similar al de una ATC, procedemos a su fresado en aumento de tamaños. Una vez obtenido el fresado óptimo, se procede a la inserción del componente metálico acetabular mediante un sistema press-fit de impactación. A continuación, colocamos el componente metálico de la cabeza femoral, pudiendo ser de tipo press-fit como el acetabular o cementado, y se impacta.

El paciente empieza a deambular a partir del primer día postoperatorio, cargando peso según tolerancia. Suelen valerse de muletas o bastones durante dos o tres semanas.

Complicaciones

- Desgaste del cartílago acetabular y consiguiente clínica (AS parciales).
- Fractura del cuello femoral.
- Fractura periprotésica.
- Aflojamiento de los implantes.
- Metalosis (AS metal-metal).

**1.2.2.2 Artroplastia total de cadera**

De todas las intervenciones disponibles hasta la fecha para tratar la ONCF, la ATC es el tratamiento que con mayor probabilidad ofrece un inmediato alivio sintomático y satisfactorios resultados funcionales, siempre teniendo en cuenta que estas ventajas llevan consigo el hecho de tener que sacrificar en el proceso una importante cantidad de hueso que, en gran medida, acota las posibles opciones quirúrgicas posteriores. La ATC es continuamente mejorada mediante nuevos avances en superficies de contacto, composición de los componentes, tipos y formas de implantes y técnicas quirúrgicas que han hecho que en la actualidad, los resultados sean muy similares a los obtenidos en ATC primarias<sup>125, 126</sup>.

Indicaciones

- Estadios avanzados, III y IV ARCO.
- Afectación artrósica global de la articulación, incluyendo acetábulo.
- Personas de edad avanzada y poca demanda funcional.
- Tras fracaso de otras técnicas.

Técnica quirúrgica

Muy similar al de una ATC primaria y al ya descrito para la AS, pero con las siguientes salvedades:

- El cirujano deberá valorar, según diversos criterios del paciente como son la edad, actividad diaria, calidad de hueso o la propia experiencia del cirujano, los materiales a elegir para la sustitución de las caras articulares. Así pues, los materiales más utilizados son: cerámica-cerámica, cerámica-polietileno o metal-metal. E igualmente decidir si esos materiales serán cementados o no.

- Previo a la luxación femoral, se pueden realizar la osteotomía a nivel del cuello y extracción de la cabeza femoral, lo que nos facilitará el proceso.
- El fémur proximal en esta ocasión tendrá un vástago de anclaje, por lo cual se necesita de una preparación del canal femoral, mediante fresado y comprobación del tamaño definitivo mediante raspa prueba; y su posterior inserción.

De la misma manera, el postoperatorio es similar al de la AS, iniciando la deambulación en el primer día del postoperatorio y pudiendo hacer una relativa vida normal sin uso de muletas a partir de la tercera o cuarta semana.

### Complicaciones<sup>127</sup>

- Aflojamiento de los componentes.
- Infección.
- Luxación.
- Fractura periprotésica.

### **1.2.3 Nuevas terapias y líneas de investigación**

En el tratamiento de la ONCF han sido muchos los avances y temas de investigación que se han abierto en los últimos años.

Un importante campo de estudio ha sido el desarrollado en base a los conocimientos que tenemos sobre cómo el potencial autoregenerador de la zona necrótica en una ONCF está fuertemente disminuido por el ambiente y los distintos componentes secundarios generados, inhibiendo de esta manera una posible reosificación. Además, sabemos que las CSM que intentan ser promovidas como respuesta presentan una disminución de su capacidad proliferativa y osteogénica. La capacidad de secreción de células progenitoras y factores de crecimiento endoteliales por los vasos también decrece favoreciendo el agravamiento de la necrosis<sup>128</sup>. Un factor añadido a esta cascada de acontecimientos es la lipotoxicidad característica de la ONCF inducida por esteroides, que mediante el incremento del ácido palmítico y oleico favorecen la expresión de interleuquina-6 y -8 (IL-6 y IL-8), lo que promueve la adipogénesis e inhibe la osteogénesis<sup>129</sup>. En consecuencia, recientemente se está investigando con la inducción de cambios

bioquímicos en las propias CSM o su entorno. Por ejemplo, se ha visto cómo cambios en el microARN (miR), pequeñas moléculas de ARN monohebra identificados por tener capacidad reguladora de distintos procesos biológicos así como de la diferenciación de las CSM, conllevan cambios en los procesos de proliferación, apoptosis y regulación celular.

Así pues, se conoce cómo el miR-708 está sobreexpresado en la ONCF inducida por esteroides, lo que parece tener efecto supresor sobre la capacidad osteogénica, de manera que utilizándolo como diana podríamos aumentar la osteogénesis e inhibir la adipogénesis, mientras que con su desactivación evitaríamos la inhibición de la osteogénesis por los glucocorticoides<sup>130</sup>. La demetilación de miR-210 se sabe que está aumentada en numerosos procesos isquémicos y parece tener un rol en la patógenesis de la ONCF. Promoviendo la expresión de miR-210 por tanto, aumentaría la viabilidad y proliferación de células endoteliales y favorecería la angiogénesis en el sitio afecto. Para ello, *Yoan et al.* utilizan la 5-aza-2'-desoxicitidina, inhibidor del ADN metiltransferasa, aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos estadounidense (Food and Drug Administration -FDA) como tratamiento para cánceres y síndromes mielodisplásicos, con el propósito de alterar así la metilación de miR-210 y aumentar su expresión<sup>131</sup>. De forma similar, *Sun et al.*<sup>132</sup> vieron cómo el receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR $\gamma$ ) está sobreexpresado durante la diferenciación adipogénica de las CSM, y cómo el miR-548d-5p al actuar sobre este receptor, produce una disminución de sus niveles, sugiriendo así a este miR como favorecedor osteogénico en la ONCF inducida por corticoides. Otros miR como 17-5p o 27a tienen efecto parecido. Mediante la neutralización de distintas proteínas o genes como HOTAIR, Smad7 o grem1, se consigue favorecer la expresión de COL1A1, Runx2 o fosfatasa alcalina, las cuales tienen efecto osteogénico.

Diversos estudios también han investigado con la perfusión intravascular de CSM como método para conseguir acceder de forma indirecta a las zonas lesionadas de una manera incruenta, evitando así las complicaciones propias de una DN.

*Mao et al.*<sup>133</sup>, presentan a finales de 2013 62 pacientes (78 caderas) con un seguimiento a 5 años, en el que realizan la infiltración a través de la arteria circunfleja femoral medial con un concentrado autólogo procesado y previamente aspirado de cresta ilíaca anterior. La cantidad de sangre obtenida variaba entre 100 y 200 ml que posteriormente, tras su

procesado, quedaba en 30-60 ml. Analizaron los resultados en función de la progresión a colapso y la necesidad de ATC posterior, siendo éstos del 6,25%, 3,84% y 30% para estadios de Ficat I, II y III respectivamente, cifras inferiores a las ya conocidas y aceptadas de forma general (65%, 69% y 87% respectivamente), considerándolo también un proceso seguro y mínimamente invasivo. Asimismo, existen también varios estudios en animales con resultados similares tras la perfusión arterial de CSM, donde se expone un aumento del diámetro y grosor de arteriolas así como de la circulación colateral de la zona necrosada, promoviendo la angiogénesis mediante la expresión de VEGF y diferenciación de células endoteliales<sup>134</sup>. *Li et al.*<sup>135</sup> estudian la viabilidad y seguridad de la infusión, pero en su caso, vía intravenosa, de CSM-MO alogénicas para lesiones óseas de la cabeza femoral. También observan su migración y distribución en el receptor, conejos y ratones de laboratorio sin pelo, mediante el marcado de estas CSM con proteína verde fluorescente. Se distinguió una distribución uniforme en órganos y tejidos, incluyendo zonas de cabeza femoral sana y necrótica, sin presentarse rechazo inmunológico o enfermedad injerto contra huésped durante el proceso. A consecuencia, afirman que en modelo animal, las CSM infiltradas de manera intravenosa tienen capacidad para migrar a la cabeza femoral afecta y sobrevivir en las zonas necróticas, resultando ser un método viable y exento de complicaciones en el tratamiento de la ONCF.

En los últimos años también se ha investigado bastante con la forma de favorecer el asentamiento de las CSM en la zona necrótica, a través de un mediador o conductor que estimule su acoplamiento y facilite su actuación.

Así, se ha visto por ejemplo, que la administración conjunta de bifosfonatos con la infusión de CSM a través de la DN en estadios precoces tiene cierto efecto potenciador, disminuyendo sensiblemente el progreso a fase de colapso<sup>136</sup>. El injerto de CSM junto con matriz ósea desmineralizada, de efecto osteoinductor, parece también tener un efecto favorecedor en la regeneración del hueso muerto y en la formación de hueso nuevo en modelos animales, mediante la formación de una mayor densidad de neovascularización y un aumento en las fuerzas de compresión y curvatura ósea<sup>137</sup>. La infusión a través de la DN junto con un agregado plaquetario autólogo también parece mostrar según distintos estudios, una mejoría clínica y un aumento de la movilidad y del grado de satisfacción de los pacientes comparado con un grupo control<sup>138</sup>. Otro conductor podría ser el pegamento de fibrina, una matriz biopolimérica compuesta por fibrinógeno y trombina, usado frecuentemente como herramienta de sellado o cierre de tejidos y hemostasia quirúrgica.

En los ensayos *in vivo* no parece haber grandes diferencias hasta la 8ª semana, cuando se observa un aumento en la expresión de osteocalcina y CD105, que indican un incremento de la osteogénesis y la hematopoyesis, promovida por la secreción prolongada de HGF por las CSM debido a la mayor permanencia de estas células en la zona lesionada gracias a dicho pegamento<sup>139</sup>. Otro estudio reciente en animales investiga la infusión celular junto con una matriz submucosa de intestino de origen porcino, que permite la adherencia celular y el crecimiento, migración y difusión de nutrientes. Además, al ser una matriz acelular extracelular, contiene colágeno, glicosaminoglucanos, glicoproteínas y citoquinas que inducen el acoplamiento, la proliferación y diferenciación celular junto a la promoción de la angiogénesis<sup>140, 141</sup>, lo cual ya había sido previamente descubierto en ensayos *in vivo*<sup>142, 143</sup>.

Debido a los modestos resultados de los injertos vascularizados y no vascularizados, así como de los tornillos de tantalio, actualmente se está investigando inspirándose en la idea de conseguir un soporte estructural que pueda favorecer y establecer un arbotante biológico y biomecánico que aumente la fuerza estructural, acelere el proceso de regeneración tisular y consiga evitar o retrasar el colapso de la cabeza femoral debido al defecto subcondral ya creado. Dicho esto, han sido numerosos los estudios que se han publicado basados en la adición de algún tipo de soporte o “*scaffold*” a los tratamientos ya convencionales.

*Maruyama et al.*<sup>144</sup> usan una técnica novel consistente en la impresión 3D de *scaffolds* de forma cilíndrica y porosidad degradada, realizados en fosfato tricálcico y policaprolactona, con capacidad osteoinductora. Lo añaden como gesto a la clásica DN y adición de aspirado de médula ósea en conejos, refiriendo un aumento del crecimiento óseo. *Peng et al.*<sup>145</sup> realizaron algo similar en modelos caninos, mediante una estructura cerámica porosa laminada de fosfato cálcico bifásico, rellenando los poros con CSM, con la idea de favorecer la fortaleza estructural, conseguir un módulo de Young similar al de hueso esponjoso y ser un suplemento biocompatible. El estroncio es un elemento con capacidad para fomentar la formación de hueso así como para inhibir su reabsorción. *Kang et al.*<sup>146</sup> realizaron la limpieza de la zona necrótica mediante la creación de una trampilla en la cabeza femoral, una DN y posterior relleno con un sustituto de polifosfato cálcico y estroncio en animales, reportando mejorías respecto a estudios previos. También se ha tratado la ONCF con injertos estructurales en forma de varillas de fosfato cálcico, con un alto contenido en factores de crecimiento endotelial vascular y proteína

morfogénica ósea, que cargados en microesferas de ácido poliláctico-co-glicólico, eran implantados en los túneles creados por la DN, demostrando su biocompatibilidad así como cierta capacidad angio- y osteogénica *in vivo*<sup>143, 147</sup>.

### 1.3 Células mesenquimales y sus propiedades

La definición inicial de una célula stem o célula madre se debe a Till y McCulloch, quienes describieron la célula stem hematopoyética<sup>148</sup>. Ellos comprobaron que en la médula ósea existían células con capacidad de diferenciación a todos los linajes de un tejido (en su caso las células hematopoyéticas), capacidad de proliferación y también capacidad de autorrenovación. Mediante esta última, y gracias a la división asimétrica de las células madre, se mantiene un número de estas células en cada tejido que mantienen la homeostasis de éstos a lo largo de la vida del individuo.

Posteriormente, se describió que en la médula ósea no solo había células madre hematopoyéticas sino también otros tipos celulares con estas mismas propiedades. Entre ellas destacan las células stem mesenquimales, que fueron descritas por Friedenstein en 1974<sup>149</sup>. Es posible aislar CSM en tejidos distintos a la médula ósea, tales como periostio, hueso trabecular, músculo esquelético, tejido adiposo, pulpa dental, sangre periférica y de cordón umbilical o tejido sinovial<sup>150</sup>, pero el más utilizado es el de médula ósea adulta, que contiene varias poblaciones de células madre multipotentes y células progenitoras mesenquimales caracterizadas por su potencial de diferenciación.

La *International Society for Cellular Therapy* (ISCT)<sup>151</sup> ha establecido una serie de criterios para considerar a este tipo de células como CSM. Estos criterios son: adherencia al plástico, expresión en membrana de CD105, CD73, CD90 y ausencia de CD45, CD34, CD14 o CD11b, CD79 o CD19, HLA-DR, y capacidad de diferenciación en las tres líneas básicas: hueso, cartílago y tejido graso, al ser cultivadas en las condiciones adecuadas y en presencia de estímulos precisos para cada estirpe celular. Desde el punto de vista funcional podemos considerar que esta capacidad de diferenciación es una de sus características primordiales. Sin embargo, estas células tienen importantes propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias, que inducen no solo mediante contacto célula-

célula, sino por la liberación de factores paracrinos y vesículas extracelulares. Todas estas propiedades han hecho que este tipo celular sea una herramienta terapéutica atractiva que se está empleando no solo en enfermedades osteoarticulares sino en enfermedades inflamatorias o inmunes<sup>152, 153</sup>. Revisaremos brevemente a continuación alguna de estas propiedades.

### 1.3.1 Multipotencialidad

Se refiere a la capacidad de una célula para dar origen a distintos tipos celulares dentro de un mismo tejido o capa embrionaria. La capacidad multipotencial de las CSM empezó a demostrarse *in vivo* desde su primera descripción, con los trabajos de *Friedenstein*<sup>154</sup>, observando que estas células cultivadas *in vitro* y trasplantadas en ratones eran capaces de producir fibroblastos y osteoblastos. Más adelante, los trabajos realizados por *Owen et al.*<sup>155</sup> demostraron, también en modelos animales, la capacidad de estas células para producir condrocitos y tejido conjuntivo. Tiempo después, *Caplan et al.*<sup>156</sup>, lograron cultivar y trasplantar, también en experimentos animales, células troncales mesenquimales humanas y tras un periodo de tiempo observaron la formación de hueso. Fueron los estudios de *Pittenger*<sup>157</sup> los que demostraron la capacidad *in vitro* de las CSM humanas para diferenciarse en células adiposas, osteoblastos y condrocitos. Estos estudios, realizados a partir de células formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F) aisladas, demostraron que la diferenciación de estas células depende de su ambiente, y que no todas las CFU-F tienen el mismo potencial de diferenciación.

### 1.3.2 Plasticidad

Se define la plasticidad celular como la capacidad de una célula para diferenciarse en células maduras distintas a las de su tejido de origen; es la versatilidad de una célula para sobrepasar la barrera de linaje y adoptar perfiles de expresión y fenotipos funcionales de células de otros tipos de tejidos. De este modo, como vamos a ver a continuación, algunos estudios han sugerido que las CSM pueden diferenciarse no solamente en células del mesodermo, sino que también pueden adoptar un destino endodermal o ectodermal,

aunque este siempre es un motivo de controversia científica que no es admitido por muchos investigadores en este campo.

Son varios los grupos de investigación que han estudiado estas propiedades. Los primeros trabajos, por *Wakitani y Caplan*<sup>158</sup>, analizaron la capacidad de estas células para diferenciarse en células musculares (o miocitos). Con *Pereira y Prockop*<sup>159</sup>, quedó demostrada la capacidad de las CSM para diferenciarse *in vivo* en células de bazo, cartílago, médula y hueso. *Sandhu* observó que al injertar CSM en los tejidos mesenquimales, se reemplaza una proporción de células troncales mesenquimales del receptor en la médula ósea, y participan posteriormente en las funciones biológicas normales, sirviendo como fuente de células progenitoras de varios tejidos<sup>160</sup>. Igualmente, existen algunos estudios que demuestran y apoyan cómo, células estromales de médula ósea adulta, pueden ser inducidas a diferenciarse en células neuronales y endoteliales<sup>161-163</sup>.

### 1.3.3 Capacidad antiapoptótica

Se ha visto en numerosos estudios realizados en tejidos animales la capacidad de las CSM para disminuir la extensión de la necrosis celular una vez producida una lesión aguda. Existen ejemplos como el presentado por *Togel et al.*<sup>164</sup>, donde la infusión de CSM a través de la microvascularización renal, producía una disminución de la apoptosis de las células adyacentes tras un proceso de isquemia-reperfusión renal, observando la presencia de factores de crecimiento VEGF, HGF, IGF-1 que estimularían el crecimiento celular y su supervivencia. Se ha observado también la capacidad de estas células para, una vez estimuladas por células apoptóticas, favorecer la producción de STC-1, un péptido hormonal que regula el metabolismo mineral con efecto pleiotrópico, y producir así una disminución del proceso apoptótico en células cancerígenas epiteliales de pulmón<sup>165</sup>. La hipoxia acontece en las primeras fases de un daño tisular, así pues, la administración de CSM en esta fase junto con sus distintos efectos podría ayudar a disminuir la extensión de la región necrótica.

### 1.3.4 Inmunomodulación

El conocimiento de la capacidad inmunomoduladora de las CSM proviene de experimentos animales donde se observaba la inhibición directa de la proliferación de linfocitos T activados, así como su efecto citotóxico<sup>166</sup>. Se conoce que las CSM no solo tienen efecto sobre los linfocitos T, sino también sobre otras células del sistema inmune. Éstas pueden inhibir la proliferación de células B, suprimir la activación de células NK y modular la secreción de citoquinas de células dendríticas o macrófagos, lo que confiere a las CSM una gran influencia directa e indirecta sobre el sistema inmune. Mientras que la mayoría de los mecanismos de supresión que ejercen sobre los linfocitos B permanecen aún desconocidos, una variante del factor CCL2 ha mostrado ser capaz de suprimir la producción de inmunoglobulinas por las células plasmáticas. La secreción de prostaglandina E2 es un mediador central en muchos de los efectos de las CSM sobre las células inmunes, observando por ejemplo que, una disminución de esta molécula produce una disminución de los efectos inhibitorios de las CSM sobre las células T y NK<sup>167</sup>. De la misma manera, se ha visto que el factor HGF o la degradación del triptófano por la enzima indolamina 2,3-dioxigenasa también tienen una acción mediadora en el efecto antiproliferativo sobre las células T. Otras moléculas que participan en la capacidad inmunomoduladora de estas células son IL-10, HLA-G o LIF, ésta última con un importante papel no solo en la supresión sino en la formación y regulación de las células T. El resultado de estos mecanismos inmunomoduladores de las CSM puede ser observado *in vivo*, aunque en la mayoría de los casos definir las moléculas responsables del efecto resulta difícil debido a la complejidad de las interacciones CSM-células endógenas, las cuales también pueden activar los mecanismos intrínsecos del huésped.

Por otro lado, los efectos de las CSM sobre el sistema inmune no son estrictamente supresivos. Por ejemplo, un bajo número de CSM puede favorecer que las células dendríticas tiendan a promover la activación de células T, mientras que, para causar el efecto contrario, haría falta un mayor número de CSM. Bajas dosis de IFN-gamma permiten a las CSM expresar moléculas con complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (CMH-II) y comportarse como células presentadoras de antígenos; por otro lado, dosis mayores de IFN-gamma promueven un descenso de moléculas con CMH-II y la secreción de factores antiinflamatorios. Además, las CSM mantienen la expansión y diferenciación de las células B. Estos hallazgos demuestran que el comportamiento de las

CSM para con el sistema inmune es dependiente del ambiente y del estímulo concreto que reciban.

### **1.3.5 Antifibrótico**

En el proceso de curación de muchas lesiones tisulares, tales como las producidas por isquemia (infarto miocárdico), trauma, cirugía o procesos inflamatorios, tienden en ocasiones a producir un tejido cicatricial extenso no deseable.

A pesar de que el efecto antifibrótico de las CSM ha sido demostrado en numerosos experimentos en animales, el mecanismo molecular de dicho efecto no es bien conocido. Según los estudios publicados hasta la fecha, la administración de CSM es solo efectiva si se realiza antes de que se produzca una fibrosis masiva. Recientemente se ha demostrado que el bFGF y HGF están involucrados en la prevención de fibrosis en lesiones de isquemia-reperusión animal<sup>168</sup>. Existe otro estudio en roedores con fallo cardíaco que muestra cómo las CSM trasplantadas disminuían la fibrosis cardíaca, siendo la secreción de adrenomedulina uno de los factores que mediarían el efecto antifibrótico<sup>169</sup>.

### **1.3.6 Soportes para el crecimiento y diferenciación de células madre y progenitoras locales**

Las CSM mantienen la hematopoyesis *in vitro*, y esta capacidad engloba la secreción constitutiva de factores tales como SCF, LIF, IL-6 y M-CSF; además, este proceso hematopoyético puede verse aumentado con la secreción inducida por IL-1 alfa de G-CSF y GM-CSF. *In vivo*, las células adventicias reticulares, que son CSM, preservan el pool de células madre hematopoyéticas a partir de la secreción de diversos factores, como son el SDF-1 o aka CXCL12, lo que sugiere que el mantenimiento hematopoyético observado *in vitro* imita algunos aspectos de los observados bajo condiciones fisiológicas *in vivo*. En estudios en roedores se observó cómo ante un daño isquémico cerebral, las células sanguíneas expresaban SDF-1 y angioproteína-1, las cuales reclutaban y favorecían el mantenimiento de precursores neuronales<sup>170</sup>.

### 1.3.7 Angiogenesis

El restablecimiento de la vascularización es fundamental para la reparación de los tejidos lesionados. El efecto proangiogénico de las CSM ha sido demostrado mediante un estudio en roedores en los que se les causaba una isquemia de los miembros traseros. Aquí los autores detectaron bFGF, VEGF, PIGF y MCP-1 alrededor de las CSM infundidas localmente<sup>171</sup>. Igualmente, *Hung et al.* demostraron que las CSM contenían altas cantidades de factores angiogénicos y antiapoptóticos como IL-6, VEGF y MCP-1, los cuales inhibían la muerte de las células endoteliales cultivadas bajo condiciones de hipoxia y promovían la formación de estructuras similares a los capilares en ensayos *in vitro*<sup>172</sup>. Recientemente, algunas poblaciones de CSM han demostrado tener capacidad para promover la formación de estructuras similares a vasos a partir de células endoteliales *in vitro*, donde las CSM proveen, además de factores angiogénicos, componentes de la matriz extracelular que sirven de sustrato para las células endoteliales. Finalmente, la transición de las CSM a pericitos situados en los nuevos vasos formados sirve como estabilización de la nueva vascularización en formación, tanto *in vitro* como *in vivo*.

### 1.3.8 Quimiotaxis

Las CSM cultivadas secretan una gran variedad de moléculas quimiotácticas, tales como CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1alfa), CCL4 (MIP-1beta), CCL5 (RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL20 (MIP-3alfa), CCL26 (eotaxin-3), CX3CL1 (fractalquina), CXCL5 (ENA-78), CXCL11 (i-TAC), CXCL1 (GROalfa), CXCL12 (SDF-1), CXCL8 (IL-8), CXCL2 (GRObeta) y CXCL10 (IP-10). Y las células diana para éstas incluyen monocitos, eosinófilos, neutrófilos, basófilos, células T *naive* o de memoria, células B, células NK, células dendríticas y progenitores hematopoyéticos y endoteliales. Aunque estas moléculas sean expresadas por CSM cultivadas, existen algunas discrepancias entre estudios en posible relación con el proceso de cultivo, lo que hace probable que el patrón de expresión de quimiocinas por las CSM sea modificado por la exposición a otros tipos celulares, particularmente a células inmunitarias.

## **1.4 Células mesenquimales en Cirugía Ortopédica y Traumatología**

Numerosas lesiones musculoesqueléticas son de carácter insidioso, dolorosas y limitantes para la vida diaria. Generalmente existen métodos de tratamiento específicos y con buen resultado funcional, pero en algunos casos el tratamiento es controvertido y los resultados muchas veces no son tan satisfactorios ni predecibles. La terapia celular con CSM se ha convertido en la estrategia celular más explorada en ensayos clínicos de lesiones musculoesqueléticas, tras encontrar evidencias objetivas pre-clínicas de mejora del potencial de consolidación ósea y la cicatrización de tejidos. Así pues, basándonos en los numerosos estudios y trabajos experimentales, nos hacemos una idea del amplio espectro de enfermedades que pueden beneficiarse de este tipo de terapia. De entre las distintas fuentes de terapia celular, las CSM constituyen la principal debido a su capacidad para diferenciarse en una gran cantidad de tejidos como músculo, hueso, grasa o cartílago, con la ventaja añadida de que pueden ser obtenidas de diversas fuentes como hueso, tendón, piel, tejido adiposo, cordón umbilical o placenta.

### **1.4.1 Lesiones osteoarticulares**

Las fracturas y lesiones traumáticas con afectación articular son el principal campo de batalla del cirujano ortopédico, y para tratarlas puede valerse de numerosas opciones quirúrgicas. El manejo de este tipo de lesiones evoluciona cada día, consiguiendo que las mejoras se traduzcan en nuevas ventajas como son un menor tiempo quirúrgico, mayor estabilidad de la osteosíntesis, mejora de la calidad de regeneración cicatricial, satisfacción del paciente, etc. Sin embargo, existen complicaciones tales como la infección, pseudoartrosis, pérdida de movilidad, degeneración articular, entre otras, que a pesar de los avances en este campo siguen produciéndose. Por ello, existe la necesidad de hallar nuevas técnicas o procesos que permitan una mayor rapidez de curación y disminuir por tanto este tipo de complicaciones.

### Fracturas y defectos óseos

La pérdida de stock óseo tras traumatismos de alta energía es una de las situaciones más exigentes para un cirujano traumatólogo. En este campo, el primer estudio con células madre corresponde a *Masquelet*<sup>173, 174</sup>, seguido por *Henrich*<sup>175</sup>, que observaron cómo al cubrir defectos óseos femorales con membranas con CSM, se producía un aumento en la concentración de factores de crecimiento tales como BMP-2, TGFβ y VEGF. Otro estudio llevado a cabo por *Liao et al.*<sup>176</sup>, investiga los resultados alcanzados por diversos trabajos que utilizaban CSM para la consolidación ósea, determinando según su análisis que el uso de la terapia celular fomentaba la formación ósea y aumentaba la densidad mineral ósea.

### Pseudoartrosis

El porcentaje global aproximado de pseudoartrosis en fracturas tratadas quirúrgicamente oscila entre un 3 y un 8%. Existe un especial interés en el uso de CSM en este campo, pues, aunque son multitud de variables las existentes, el porcentaje no es en absoluto desdeñable. Estudios al respecto tenemos, por ejemplo, el de *Bajada et al.*<sup>177</sup>, que utilizó en una pseudoartrosis de tibia, tras 6 procedimientos previos fallidos, CSM de médula ósea junto a sulfato cálcico, consiguiendo una consolidación completa tanto clínica como radiológica en un período de 2 meses. *Giannoti et al.*<sup>178</sup>, usaron CSM igualmente en pseudoartrosis de miembros superiores, obteniendo resultados satisfactorios a largo plazo. También, *Grgurevic et al.*<sup>179</sup>, concluyeron que el uso combinado de CSM y BMP1-3 aumentaba el colágeno tipo I y la osteocalcina en este tipo de lesiones en roedores.

## **1.4.2 Lesiones medulares**

Las lesiones traumáticas espinales resultan en un daño neurológico severo con una tasa de recuperación bastante baja. En la actualidad se están realizando ensayos con CSM con vistas a poder alcanzar una regeneración axonal. *Skyova*<sup>180</sup> utilizó CSM para el tratamiento de 20 pacientes afectados de lesiones espinales transversas, concluyendo que existían beneficios, así como una recuperación más marcada en estos pacientes, siendo además un proceso exento de complicaciones; aunque igualmente determinan la necesidad de realizar más estudios. *Zhou*<sup>181</sup> preconiza que, en roedores, el uso de CSM junto con propofol favorece la recuperación e incrementa el efecto de las CSM, debido a su efecto neuroprotector en este tipo de lesiones. En 2018 el grupo del *Dr. Vaquero*

presenta un ensayo clínico en fase II que se basa en la administración intratecal de CSM en pacientes con lesión medular crónica, resultando en una mejora principalmente de la clínica de disfunción esfinteriana, dolor neuropático y sensibilidad<sup>182</sup>.

### 1.4.3 Artrosis y lesiones condrales

La artrosis es una enfermedad degenerativa no curable que afecta fundamentalmente a miembros de carga. Supone una de las patologías ortopédicas más frecuentes. En fases iniciales el cartílago articular va degenerando, haciendo que el espacio articular se haga más estrecho, generando dolor articular e impotencia funcional. Recientes estudios de terapia celular en estas enfermedades abordan resultados favorables, que podrían llevar incluso a disminuir la necesidad de realizar un tratamiento quirúrgico agresivo.

La sabida capacidad condrogénica y potencial regenerativo de las CSM, junto a la baja capacidad de regeneración intrínseca del propio cartílago dañado, hacen que el uso de esta terapia se esté incrementando exponencialmente. Las CSM tienen la capacidad de producir un tejido muy similar al condral de una matriz de colágeno tipo II y agrecanos bajo determinadas condiciones de cultivo. *Wakitani*<sup>183</sup> fue el primero en arrojar datos sobre el uso de CSM como tratamiento en rodillas artrósicas, llegando a la conclusión de que los resultados eran mejores tanto artroscópica como histológicamente, a pesar de que clínicamente no hubo grandes diferencias. *Murdoch et al.*<sup>184</sup>, observaron cómo el trasplante de CSM junto a una membrana permeable con factores de crecimiento, producía discos cartilaginosos translúcidos y expresaba proteínas específicas del tejido condral, como agrecanos y colágeno tipo II, concluyendo que el medio creado era gran favorecedor de la condrogénesis. *Zhu et al.*<sup>185</sup>, por ejemplo, prefirieron la combinación de CSM y factores de crecimiento de tejido conectivo junto con membranas artificiales de ácido PLGA, y observaron que el tejido cartilaginoso regenerando era similar al cartílago hialino normal, suponiendo por tanto una buena alternativa terapéutica. *Guo et al.*<sup>186</sup>, usaron CSM combinadas con TGF-beta para el tratamiento de defectos condrales, obteniendo resultados satisfactorios, fundamentalmente en lesiones degenerativas. Así mismo, nuestro propio grupo ha participado en diversos ensayos clínicos de la red TerCel de tratamiento de la artrosis de rodilla con células mesenquimales<sup>187, 188</sup>.

#### 1.4.4 Lesiones ligamentosas y tendinosas

Aproximadamente la mitad de las lesiones musculoesqueléticas comprometen tejidos blandos como son ligamentos y tendones, con la particularidad de que este tipo de lesiones suelen necesitar un periodo más largo de recuperación, y su cicatrización requiere una organización estructural de las fibras de colágeno, para no producir una disminución de la capacidad de función o una re-rotura. En la mayoría de los casos, los distintos autores están a favor de que el uso de la terapia celular con CSM conlleva un acortamiento del periodo de cicatrización y unos mejores resultados clínicos, aunque es cierto que existe gran controversia al respecto, dejando la puerta abierta a la realización de nuevos trabajos que permitan establecer criterios de uso en este tipo de lesiones.

##### Lesiones del manguito rotador

Las roturas de los tendones del manguito rotador del hombro son bastante frecuentes en adultos y personas mayores, ocasionando una clínica limitante por el dolor que ocasiona y la limitación para la correcta movilización del hombro. El principal problema del tratamiento de estas lesiones es el alto índice de re-rotura que conllevan. Diversos estudios se han centrado en la evolución postquirúrgica de estas lesiones, comparando los métodos habituales únicamente, con la instilación de determinados suplementos, como son las CSM. *Yokota et al.*<sup>189</sup>, por ejemplo, comparó resultados en lesiones del tendón del infraespinoso de roedores instilando CSM junto con ácido poliglicólico en una membrana, observando la regeneración de la interfase tendón-hueso junto con un aumento de la resistencia.

##### Lesiones del ligamento cruzado anterior

El ligamento cruzado anterior (LCA) es un estabilizador primario de la rodilla, susceptible de romperse parcial o totalmente en lesiones traumáticas y deportivas. Debido a la incapacidad del LCA para cicatrizar dentro de un medio intrarticular, la reconstrucción quirúrgica se hace necesaria. *Chen et al.*<sup>190</sup>, observaron cómo el uso de matrices modificadas y suplementadas con CSM supuso una mayor proliferación de colágeno tipo I y de la densidad celular en la regeneración del LCA en estudios *in vitro*.

##### Lesiones del ligamento colateral medial

Al igual que con las lesiones del LCA, *Saether*<sup>191</sup> estudió el empleo de bajas dosis de CSM en lesiones del ligamento colateral medial de roedores, comprobando que su

instilación producía en los días posteriores menos inflamación y promovía una mejor calidad en la regeneración del tejido en un corto período de tiempo comparado con los no tratados con CSM.

### **1.4.5 Lesiones meniscales**

Las lesiones meniscales pueden producirse a cualquier edad y tienen ciertas implicaciones biomecánicas que pueden hacer que un tratamiento no satisfactorio suponga un deterioro degenerativo de la articulación de la rodilla. Existen distintos estudios que arrojan buenos resultados en la capacidad de regeneración del tejido con CSM. *Hatsushika et al.*<sup>192</sup>, en modelos porcinos, utilizaron CSM alogénicas sinoviales para el tratamiento de roturas meniscales masivas y realizaron un posterior seguimiento mediante RM y cortes histológicos, indicando en sus conclusiones que las CSM podían promover la regeneración meniscal y proporcionar efecto protector al cartílago articular femoral. En seres humanos, *Vangsness et al.*<sup>193</sup> trataron rodillas con meniscectomías parciales con células madre alogénicas, reportando un aumento del volumen meniscal y una disminución del dolor en comparación con una cohorte de rodillas tratadas únicamente con infiltración de ácido hialurónico.

### **1.4.6 Enfermedades óseas**

#### *Osteogénesis imperfecta*

Se trata de una enfermedad genética en la cual los osteoblastos producen colágeno tipo I en poca cantidad o mala calidad, lo que conlleva una osteopenia y las consiguientes complicaciones como son múltiples fracturas, severas deformidades óseas y disminución de la estatura. *Horwitz*<sup>194</sup> describe los primeros resultados obtenidos en 3 niños afectados tras el trasplante alogénico de CSM, observando respecto a los controles, un aumento de la densidad mineral ósea y de la velocidad de crecimiento y una reducción del índice de fracturas.

### Osteonecrosis de la cabeza femoral

Mediante RM se pueden observar cambios en la señal de la médula ósea en pacientes con osteonecrosis apreciándose, por ejemplo, un aumento de contenido adiposo en la zona medular intertrocanterica. Se ha visto que los esteroides tienen capacidad de adipogénesis y estimulan la expresión de genes específicos del tejido graso en las células de la médula ósea. También se conoce la disfunción de las células madre osteogénicas en pacientes con ONCF, además de haberse demostrado una disminución del pool de este tipo de células en cresta ilíaca en estudios *in vitro*. A consecuencia de estos cambios, la vascularización intramedular se altera predisponiendo al desarrollo de ONCF, y, a pesar de que multitud de estudios e investigaciones han demostrado que el hueso necrótico puede ser reemplazado por tejido vivo, otro hecho importante es la insuficiente reparación ósea una vez producido el daño debido al bajo número de células progenitoras y consecuente disminución del potencial osteogénico<sup>195</sup>.

A partir de estos estudios, se pensó que aunque la DN mostraba signos de regeneración y reparación, posiblemente fuera insuficiente. Y así surgió la idea de la implantación de médula ósea autóloga como tratamiento alternativo para la ONCF.

La efectividad de este tratamiento puede tener relación con la disponibilidad de células madre mesenquimales con capacidad osteogénica, así como de células estromales que secretan citoquinas con capacidad angiogénica, que estimulan un aumento de la red vascular y la consecuente mejora del proceso de osteogénesis. También poseen precursores endoteliales que estimulan la angiogénesis en un tejido deficitario en vasos, y la neoangiogénesis a partir de capilares preexistentes. Con la generación de nuevos capilares, el endotelio en crecimiento predispone a la movilización de precursores mesenquimales a través de la angioproteína 1-Tie2, que crea pericitos y células de soporte vascular necesarios para esos nuevos vasos en formación. De igual modo, la isquemia que se produce a nivel local, activa diversas señales que producen un estímulo continuo para la reparación de los vasos sanguíneos y el aporte de nuevas células en la regeneración ósea. Como ya se ha comentado previamente, las CSM actúan a través de diversos mecanismos que propician un aumento de la regeneración y reparación en aquellos sitios donde se inoculan<sup>196, 197</sup>.

Son dos, por tanto, las principales funciones de estas células. Por un lado, la secreción de un amplio espectro de factores con capacidad inmunomoduladora, antiinflamatoria,

antiapoptótica, proangiogénica y proliferativa, entre otras; y por otro, la orquestación del proceso de diferenciación junto con las células ya existentes para la restauración del tejido.

Así pues, los pioneros en la aplicación de CSM en la ONCF fueron *Hernigou et al.*<sup>198</sup> seguidos de *Gangji et al.*<sup>199</sup>, quienes instilaron fracciones mononucleares de aspirado de médula ósea de cresta ilíaca en el área osteonecrótica de la cabeza femoral.

Por lo prometedor de los resultados que se van obteniendo, existe un entusiasmo creciente en cuanto al desarrollo de terapias celulares que puedan mejorar los resultados en fases iniciales de la ONCF, siendo por ello el objeto del presente estudio.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## 2. Hipótesis

- La combinación de una descompresión del núcleo de la cabeza femoral y la adición por vía intraósea de células mesenquimales autólogas podría ser un procedimiento factible y seguro, y potencialmente eficaz para conseguir revertir, o en su defecto detener, la progresión de la osteonecrosis idiopática de la cabeza femoral.

## 3. Objetivos

Para responder a la hipótesis, nos planteamos los siguientes objetivos.

### 3.1 General

- Evaluar la eficacia de la terapia celular con células mesenquimales autólogas en el tratamiento de pacientes afectados de osteonecrosis femoral idiopática en estadios precoces mediante la realización de un ensayo clínico fase II, prospectivo, abierto, de una única rama de tratamiento.

### 3.2 Específicos

- Verificar la seguridad de la implantación local de células madre mesenquimales autólogas expandidas *in vitro* en suspensión en el tratamiento de estos pacientes.
- Analizar la factibilidad del proceso y la posibilidad de desarrollo.
- Evaluar los resultados clínicos, comparando mediante cuestionarios y escalas de dolor, función, calidad de vida y estatus laboral el estado previo al tratamiento y los sucesivos a lo largo del seguimiento.

## Hipótesis y objetivos

- Evaluar los resultados de la radiología simple y resonancia magnética, comparando el estado óseo de los estudios previos al tratamiento y los sucesivos a lo largo del seguimiento.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**



## 4. Material y métodos

Se llevó a cabo un ensayo clínico fase II prospectivo, abierto, no aleatorizado de tratamiento de la osteonecrosis de la cabeza femoral mediante la administración de células mesenquimales autólogas. El promotor del ensayo ha sido la Fundación General de la Universidad de Salamanca, con código de protocolo CSM/ON/2011 y EudraCT: 2011-005258-70. La fecha de aprobación por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) y de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) fue el 28/11/2011.

Como se ha mencionado al principio de este trabajo, este ensayo clínico ha sido financiado por el Ministerio de Sanidad en la convocatoria para la concesión de ayudas para el fomento de la Investigación Clínica Independiente del año 2010 (ref. EC10-188) con una cantidad total concedida de 141.200 €.

### 4.1 Pacientes

#### 4.1.1 Población a estudio

El grupo experimental estuvo constituido por 8 pacientes con osteonecrosis de la cabeza femoral, en fases precoces de la enfermedad (estadios <IIC de la clasificación de ARCO). Estos pacientes recibieron como medicación de estudio una suspensión de células stem mesenquimales autólogas (suspendidas en una solución de 5-10 ml de suero fisiológico y albúmina humana al 5%) en una única dosis de  $0,5-1 \times 10^6$  células/kg del paciente, administradas por vía intraósea con un trocar y bajo control radioscópico.

#### **4.1.2 Criterios de participación en el estudio y periodo de inclusión**

##### Criterios de inclusión:

Los pacientes incluidos en el estudio cumplieron todos los criterios de inclusión:

- Edad entre 18 y 70 años.
- Diagnóstico clínico y por imagen (Rx y RM) de osteonecrosis idiopática de la cabeza femoral.
- Estadios < IIC en la clasificación ARCO.

##### Criterios de exclusión:

Los pacientes que presentasen alguno de los siguientes criterios de exclusión no pudieron ser incluidos en el ensayo clínico:

- Aquellos que a juicio del investigador no estuviesen en una situación adecuada para tolerar el procedimiento.
- Criterios clínicos y anestésicos que contraindicasen la cirugía (por ejemplo, criterios de la American Society of Anesthesiologists [ASA] IV-V).
- Enfermedad grave no controlada.
- Mujeres embarazadas.
- Pacientes con infección VIH+.
- Infección aguda (en los 15 días previos) o crónica (distinta del VIH).
- Haber recibido tratamientos previos para la osteonecrosis en la misma cadera.
- Enfermedad neoplásica activa o previa (últimos 5 años).
- Ausencia de consentimiento informado o revocación del mismo.

La inclusión de pacientes comprendió un periodo de 12 a 24 meses.

#### **4.1.3 Información proporcionada a los sujetos y tipo de consentimiento solicitado en el ensayo**

Se explicó detalladamente la naturaleza del estudio, su propósito, una aclaración detallada de la técnica, la duración prevista, los posibles riesgos, complicaciones y beneficios y cualquier malestar que pudiese conllevar, entregando al sujeto una copia de la hoja de información al paciente. Igualmente, se informó de que la participación del sujeto en el

estudio era de carácter voluntario, teniendo derecho a retirarse de éste en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que su retirada derivase en responsabilidad ni perjuicio alguno, afectase a su tratamiento médico posterior o a la relación con el médico que le estuviese tratando. Naturalmente, se dio tiempo suficiente para considerar el estudio antes de decidir si el sujeto iba a participar en el ensayo o iba a retirarse en cualquier momento.

El consentimiento del paciente participante en el ensayo se obtuvo siempre por escrito y de acuerdo con el documento aprobado por el CEIM del Área de Salud de Salamanca (*Anexo I*). En caso de aceptar su participación en el estudio, cada paciente había de firmar y fechar el formulario del consentimiento informado antes de ser incluido, es decir, antes de emprender cualquier procedimiento del estudio. Una vez firmado y fechado por el sujeto participante (o su representante) y por el investigador, se le entregaba una copia. El original de dicho documento se ha almacenado en el centro junto al resto de la documentación del estudio.

#### **4.1.4 Evaluación previa de los pacientes**

A los pacientes incluidos finalmente en el ensayo se les evaluó, además del estudio preoperatorio habitual (valoración anestésica, analítica, electrocardiograma, Rx tórax, etc.), la situación basal pre-tratamiento, mediante:

- a. Diagnóstico clínico de osteonecrosis femoral: dolor y limitación funcional en la cadera afecta.
- b. Evaluación clínica: escala visual analógica del dolor (EVA) y escala de Harris.
- c. Evaluación del estado general de salud: cuestionario de salud SF-36.
- d. Diagnóstico radiológico: radiografía simple anteroposterior y axial de ambas caderas. RM de ambas caderas y estadiaje mediante la clasificación de ARCO.
- e. Situación clínica basal: constantes vitales, hábitos tóxicos, enfermedades concomitantes
- f. Situación laboral.

La medición de resultados clínicos y el impacto de las intervenciones en cirugía ortopédica ha sido una constante, pero desde hace años se han incrementado los instrumentos para conseguir valores objetivables para catalogar los resultados, conocer la

eficiencia de un proceso, avanzar en la investigación clínica o conocer la satisfacción del paciente. En este estudio se utilizaron 3 cuestionarios o escalas: la escala visual analógica del dolor (EVA), cuestionario Harris de cadera (*Harris Hip Score –HHS*) y el cuestionario de salud SF-36.

Las escalas de valoración del dolor son herramientas que se utilizan para intentar objetivar una sensación subjetiva de sufrimiento físico que el paciente percibe y que se conoce que tiene gran componente psico-emocional y neuro-hormonal. Permiten de la misma manera, hacerlo reproducible entre distintos observadores. La EVA consiste en una línea horizontal de 10 cm de longitud en cuyos bordes se encuentran los extremos (*Anexo II*). Comúnmente se le explica a cada paciente cómo el 0 equivaldría a sentirse libre de dolor, y el 10 correspondería a un dolor insoportable que incapacitaría la actividad diaria normal. Se le pide al enfermo que señale en que punto de dolor considera encontrarse en el momento actual, permitiendo así cuantificarlo mediante una regla milimetrada en una escala del 0 al 10, considerándose dolor leve por debajo de 3, moderado de 4 a 7, y severo por encima del 8.

El cuestionario Harris de cadera (*Harris Hip Score –HHS*) se desarrolló en 1969 con la idea de formalizar por una persona ajena la función, movilidad y evolución clínica de los pacientes que se habían sometido a una artroplastia de cadera (*Anexo III*). Desde entonces ha sufrido numerosas modificaciones, siendo utilizado en la actualidad no solo para valorar los resultados de una cirugía protésica sino, por ejemplo, para valorar la evolución de artrosis o fracturas. El HHS incluye cinco dimensiones: dolor, función, actividades cotidianas, ausencia de deformidad y amplitud de movimiento, y utiliza un rango de puntuación global entre 0 y 100, que corresponde de peor a mejor capacidad. También se calcula la puntuación global de cada apartado mediante la suma simple de las puntuaciones, siendo el dolor y la función las que mayor peso tienen, con hasta 44 y 33 puntos respectivamente. A la actividad le corresponden 13 puntos, a la ausencia de deformidad 4 puntos, y a la amplitud de movimiento hasta 6 puntos. Existen distintos criterios de valoración de los resultados, pero *grosso modo*, podemos estipular una excelente capacidad funcional entre 90 y 100; buena entre 80 y 89; aceptable entre 70 y 79; y una pobre capacidad cuando está por debajo de 70 puntos.

El cuestionario de salud SF-36 se trata de una escala genérica que nos proporciona una aproximación al estado de salud y calidad de vida de cada paciente, siendo uno de los más

utilizados a nivel mundial, y con la ventaja de llevar tan solo un tiempo aproximado de 5 minutos para su realización (*Anexo IV*). Contiene 36 ítems que abarcan ocho dimensiones del estado de salud. Para cada apartado se crea una escala de puntuación del 0 al 100, detectando estados de salud tanto positivos como negativos. Cubren las siguientes escalas: función física, rol físico, dolor corporal, salud general, vitalidad, función social, rol emocional y salud mental; y además permite el cálculo de 2 puntuaciones globales, la concerniente a la salud física y a la salud mental, mediante la combinación de las puntuaciones de cada dimensión. La interpretación de los resultados se realiza mediante normas poblacionales, es decir, mediante la comparación con valores de referencia para una población, edad y sexo, pudiendo identificar de esa manera el posible impacto de la ONCF sobre la calidad de vida de los pacientes.

En cuanto a los hábitos tóxicos, los pacientes eran interrogados sobre el hábito tabáquico, consumo de drogas o grado de ingesta de alcohol. Respecto a este último, y sabida su relación etiológica, el grado de consumo fue estratificado usando una variación de la escala de Marconi, que utiliza criterios basados en cantidad y frecuencia de consumo. Así encontramos el bebedor abstemio, o que nunca prueba el alcohol; el bebedor ocasional, que consume menos de 20 ml de etanol en situaciones especiales, no más de 5 veces año; el moderado, con cantidades menores de 100 ml y una periodicidad no superior a las 3 veces por semana; y el excesivo, el bebedor que ingiere una cantidad mayor de 100 ml con una periodicidad mayor de 3 veces a la semana. Entiéndase 100 ml de alcohol como 1 litro de vino o medio de una bebida destilada tipo ron o whisky, aproximadamente.

#### **4.1.5 Periodos y duración esperada de la participación de los sujetos**

El seguimiento de los pacientes fue de 12 meses y se llevó a cabo en 4 visitas según el esquema propuesto, por tanto, los 8 pacientes fueron evaluados de forma longitudinal para todos los parámetros clínicos y paraclínicos. El estudio finalizó al acabar los 12 meses de seguimiento del último paciente tratado.

El seguimiento a efectos del presente ensayo clínico se estableció en 12 meses, ya que si se objetivase progresión de los parámetros clínicos y radiológicos al año del procedimiento podría considerarse el tratamiento quirúrgico con artroplastia. En cuanto que se trata de un ensayo de seguridad y eficacia (fase II), y basándose en el diseño de

ensayos previos del propio grupo, de la red TerCel y los publicados en la literatura, se estableció este periodo de seguimiento. De cualquier forma, todos los pacientes sometidos a un procedimiento de artroplastia son seguidos durante un mínimo de 5 años, siendo, en la mayoría de los casos, el seguimiento más prolongado.

## **4.2 Producción celular**

### **4.2.1 Extracción de médula ósea**

El procedimiento para la extracción de la muestra fue el descrito en los procedimientos normalizados de trabajo del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca y fue realizado por hematólogos del mismo. Antes de proceder a la extracción de la muestra, se comprobó que se disponía del consentimiento informado, previamente firmado por el paciente en el período de preinclusión.

De esta manera, aproximadamente cuatro semanas antes de la administración celular, cada paciente fue sometido a una extracción de 40 ml de médula ósea de las crestas ilíacas posteriores, que se realizó en quirófano en condiciones de esterilidad, bajo sedación con propofol. Esta médula ósea (MO) se depositó en bolsas estériles con heparina sódica y fue enviada a la Unidad de Producción Celular del Hospital Universitario de Salamanca (HUS) para ser procesada inmediatamente, y siempre dentro de las 24 horas siguientes a su extracción.

### **4.2.2 Aislamiento y expansión de las CSM**

La expansión se realizó utilizando como suplemento del medio de cultivo lisado plaquetario obtenido a partir de bolsas de plaquetas de aféresis extraídas y procesadas de acuerdo con la legislación vigente y con los estándares de calidad aplicables a los productos hemoterápicos.

Tras su recepción en el laboratorio GMP (certificación, *Good Manufacturing Practices*) de Terapia Celular, la bolsa de plaquetas se congela a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante al menos 3-4 días para lisar las plaquetas y obtener un extracto que contiene los factores de crecimiento. A continuación, se abre un registro de entrada en el que consta el número de referencia oficial de la unidad de plaquetas, la fecha de extracción, la fecha de caducidad, el grupo sanguíneo, la fecha de alicuotado y el número de alicuotas obtenido. En este registro existe un apartado en el que se recoge un histórico del empleo de cada alicuota, la fecha de su procesado y el paciente en el que se empleó, de tal forma que se pueda trazar qué unidad de plaquetas concreta se ha empleado con qué pacientes.

Posteriormente se descongelan a  $37^{\circ}\text{C}$  (en baño o a temperatura ambiente) y se introducen en la sala de producción. Se distribuye el contenido en tubos Falcon de 50 ml con cuidado para evitar contaminaciones, y para ello se utiliza un sistema de trasfusión para pasar las plaquetas a los tubos. Con la descongelación se provoca la ruptura de las membranas celulares y la salida de factores de crecimiento. Se centrifugarán los cónicos a 900 g (fuerza centrífuga relativa) durante 30 minutos para eliminar los restos celulares y se recogen todos los sobrenadantes haciendo un “pool”, que tras filtración por membrana de  $0,22\ \mu\text{m}$ , se congela en alicuotas de uso a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Estas alicuotas se pueden usar hasta 2 años después de su preparación.

#### 1. Aislamiento de las células (Día 0).

Las células obtenidas del aspirado se someten a un procedimiento de centrifugación por gradiente de densidad. Tras introducir la bolsa cerrada conteniendo la muestra en el interior de una cabina de seguridad biológica de la sala limpia (zona de producción), se procede a su apertura, filtrando la médula por un sistema con filtro de  $200\ \mu\text{m}$ . A continuación, el aspirado medular se somete al siguiente procedimiento para el aislamiento de las células:

- Se añade a la médula el volumen de PBS (solución salina fosfato tamponada, del inglés phosphate buffered saline) necesario para rebajar el hematocrito al 20%.
- En un tubo Falcon de 50 ml se añade primero el Ficoll y después la muestra muy cuidadosamente para que no se mezclen las fases (proporción: 1 parte de Ficoll y 3 de muestra).
- Centrifugar a 2000 g durante 20 minutos sin freno.
- Recoger la interfase.

- Lavar con 30 ml de PBS y centrifugar a 450 g durante 8 minutos.
- Repetir el paso anterior.
- Recuento.

## 2. Establecimiento del cultivo primario (Día 0 al día 7-14).

Las células resultantes del proceso anterior se siembran en condiciones específicas de cultivo según el siguiente procedimiento:

- Las células se siembran en frascos de cultivo celular de 175 cm<sup>2</sup> (T-175), a razón de 30 millones de células mononucleadas por frasco, en estufa con atmósfera humidificada a 37°C y con 5% de CO<sub>2</sub>. El medio de cultivo consiste en un 94%  $\alpha$ MEM (Alpha Minimum Essential Medium) + 5% de sobrenadante de lisado plaquetario + 1% penicilina-estreptomicina y heparina (2U/ml). Los frascos de cultivo serán identificados con: identificación del paciente (iniciales + hospital), fecha, CSM, número de pase (en este caso, cultivo inicial), número de células plantadas en cada frasco e iniciales del TEL que lo ha completado.
- Después de 4 días desde el momento de la siembra de las células, se descarta el sobrenadante. Lavar cuidadosamente con PBS.
- Las células se incuban en las condiciones descritas, cambiando el medio de cultivo cada 3-4 días. Tras un período de 7-14 días se forma una capa de células adherentes caracterizada por la expresión de marcadores específicos de células mesenquimales y la ausencia de marcadores de los otros tipos de células presentes en el aspirado de médula ósea, es decir, células endoteliales, hematopoyéticas, fibroblastos, etc. La determinación de la homogeneidad del cultivo se realiza mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos monoclonales específicos (CD34, CD45, CD14, CD19, CD44, CD73, CD90, CD105, CD166, CD44, HLA-DR).

## 3. Primer pase de cultivo (durante 10-15 días).

- Sin permitir que las células confluyan totalmente (cuando ocupen entre un 60-70% de la superficie del frasco de cultivo) pero una vez formadas las colonias de células, se despegan del frasco de cultivo con tryple-select, se resuspenden en medio de cultivo y se analiza la expresión de CD34, CD44, CD45, CD73, CD90 y CD166 entre otros, mediante un ensayo de inmunofluorescencia monitorizado

por citometría de flujo. Se analiza la ausencia de alteraciones genéticas en las células mediante citogenética convencional y se analiza micoplasma.

- Las células obtenidas se subcultivan distribuyéndolas en factorías de cultivo (de superficie 636cm<sup>2</sup>/piso) a una proporción de 1000 células/cm<sup>2</sup>, plantando el número necesario de factorías (cada piso tiene una superficie de 636cm<sup>2</sup>).

#### 4. Segundo pase de cultivo (duración aproximada 7-10 días).

- Cuando el cultivo alcanza aproximadamente un 80% de confluencia, de nuevo las células se despegan del frasco de cultivo con una solución de tripsina (Tryple-select), se resuspenden en medio de cultivo y se analiza, al menos, la expresión de CD44, CD45, CD73, CD90 y CD166 mediante citometría de flujo. Se vuelve a analizar la ausencia de contaminación por micoplasma y, si finaliza el cultivo, su capacidad de diferenciación hacia 3 líneas: adipocito, osteoblasto y condrocito.
- Las células que obtenemos se subcultivan distribuyéndolas en las factorías, ahora a una proporción de 5000 células/cm<sup>2</sup>.

#### 5. Tercer pase de cultivo y sucesivos (duración aproximada 7 días).

- De nuevo, cuando el cultivo ha alcanzado aproximadamente un 80% de confluencia, las células se vuelven a despegar del frasco de cultivo, se resuspenden y se analiza la expresión de CD34, CD44, CD45, CD73, CD90 y CD166, y si finaliza el cultivo, se analiza su capacidad de diferenciación hacia 2 líneas: adipocito y osteoblasto.
- Se realiza el conteo de las células obtenidas.
- Si el número de células obtenidas (tamaño de lote) no se encuentra dentro del rango de la dosis a alcanzar (entre 0,5-1,0x10<sup>6</sup> CSM/Kg paciente) se repite el procedimiento de subcultivo de las células. Se podrán realizar sucesivos procesos de subcultivo hasta un máximo de 20 duplicaciones celulares.

#### 6. En el caso de obtener un tamaño de lote dentro del rango de dosis a alcanzar.

Se nos comunica la disponibilidad del lote fabricado para programar la implantación de las células en el paciente correspondiente y se procede a su envasado en jeringas disueltas en 4-8 ml de suero fisiológico suplementado con un 5% de albúmina humana.

### 7. Obtención del producto celular final y acondicionamiento.

Inmediatamente antes de la implantación de las células en el paciente, éstas se despegan de los frascos de cultivo con Tryple-select y se lavan con PBS.

- El agregado celular resultante del lavado, tras ser sometido a los controles del proceso pertinentes (aspecto del cultivo, recuento celular, viabilidad, identidad fenotípica, tinción de Gram y ensayo de micoplasma) es cuantificado y se resuspende en 4-8 ml de volumen adecuado de solución estéril de suero fisiológico suplementado con el 5% de albúmina humana a razón de 1 ml de la solución por cada 5- 10 millones de células mesenquimales.
- Se traspasan las células a una o dos jeringas de tapón de rosca (tipo Luer-lock). Antes de cerrar las jeringas se separan 0,6 ml para control microbiológico: 100 µl para realización de test de Gram urgente y el resto para cultivo de esa misma muestra (0,5 ml para test de esterilidad).
- Una vez finaliza la expansión de las células se programa la fecha de infusión enviándose a quirófano debidamente etiquetadas y en el menor tiempo posible. Las jeringas van depositadas en bolsas térmicas de transporte con 2 acumuladores de frío (previamente congelados durante al menos 24h a -20°C). El contenedor para el transporte de las muestras biológicas se mantiene refrigerado (2-8°C) hasta el momento de la implantación al paciente. El tiempo transcurrido desde la preparación a la entrega debe ser inmediato, y nunca ha de ser superior a 24h.

### 8. Aprobación del lote.

Se comprueba que el producto cumple con las especificaciones de lote y en caso afirmativo es aprobado para congelación y su distribución posterior.

Tabla 5. *Métodos y valores de los procesos de control celular.*

Especificación	Método	Valores
Recuento celular	Cámara de Neubauer	0,5X10 <sup>6</sup> -1,0X10 <sup>6</sup> CSM/Kg de receptor
Morfología celular	Observación microscópica	Células adherentes
Viabilidad celular	Azul tripán	80% de células no teñidas
Fenotipo celular	Citometría de flujo	80% CD34-, CD45-, CD14-, CD19-, HLA-DR-, CD105+, CD166+, CD44+, CD90+ y CD73+
Esterilidad	Tinción de Gram	Negativo

### 4.3 Administración celular

#### 4.3.1 Presentación del producto en investigación

Las características del producto celular definitivo son las siguientes:

- *Producto en investigación:* células mesenquimales de MO autólogas.
- *Forma farmacéutica:* jeringa que contiene una suspensión de células mesenquimales autólogas resuspendidas en suero fisiológico suplementado con el 5% de albúmina humana.
- *Composición de la suspensión de células mesenquimales autólogas de MO:*
  - Sustancia activa: células stem mesenquimales de MO.
  - Excipientes:
    - Solución de suero fisiológico (Baxter PE 1307):
      - Cloruro sódico (900 mg/100 ml).
      - Sodio: 154 mmol/l.
      - Cloruro: 154 mmol/l.

- pH: 5,5.
- Osmolaridad: 308 mOsm/l (aprox).
  - Albúmina humana al 20% Alburnorm OctaFarma.
- *Vía de administración:* implante local mediante inyección intraósea con trocar en la cabeza femoral.
- *Pauta:* una única administración. Cada paciente recibe una dosis de  $0,5-1,0 \times 10^6$  células/Kg de peso del paciente.
- *Fabricante del producto en investigación:* Unidad de Producción Celular del HUS.

### 4.3.2 Procedimiento de administración

La forma de administración del producto terapéutico se basa en un procedimiento quirúrgico ya descrito en la literatura<sup>200</sup> popularizado por *Ficat* y *Arlet* y que se fundamenta en el efecto “descompresor” que sobre el tejido óseo necrótico ejerce la realización de una perforación. En el presente trabajo se añade al teórico efecto terapéutico de la descompresión, la aplicación de una suspensión celular con capacidad regenerativa del tejido óseo. Para ello, y tratándose de un procedimiento quirúrgico, se procede de la siguiente manera:

- Estudio preoperatorio estándar en la consulta preanestésica.
- Profilaxis antibiótica 30 minutos antes de comenzar el procedimiento (cefazolina 2 g iv o vancomicina 1g iv en alérgicos).
- Tratamiento quirúrgico:
  - Una vez correctamente identificada la cadera a intervenir, se procede al tiempo anestésico, mediante anestesia general o regional (raquídea o epidural).
  - Ya anestesiado el paciente, se coloca en decúbito supino en la mesa quirúrgica de tracción (extremidad a intervenir en posición neutra y contralateral en abducción) de tal forma que sea posible la visualización del cuello y toda la cabeza femoral con el radioscopio.
  - Se realiza una incisión de unos 2 cm aprox. en la cara lateral de la raíz del muslo, justo en la base del trocánter mayor, con disección del tejido celular subcutáneo y de la fascia lata hasta alcanzar la cortical externa del fémur. Se introduce una aguja de Kirschner por este punto, situándola a una distancia máxima de 2-3 mm respecto al cartílago articular, y si la dirección de la

misma, tras comprobación con escopia en proyecciones AP y axial, se dirige a la zona lesionada de la cabeza femoral, se procede a la perforación de la cortical externa mediante una broca canulada. Una vez conseguida la perforación, se retira la aguja y la broca y se introduce un trócar de punta multiperforada de unos 3 mm hasta alcanzar con su extremo distal la zona necrosada. Todo el proceso de inserción del trócar se realiza bajo control radioscópico.

- Una vez alcanzada la localización deseada, se procede a la administración de la suspensión celular a través del trócar de forma lenta, durante unos minutos. Es posible inyectar la totalidad del producto, debido a que la zona necrótica presenta espacios intertrabeculares que pueden ser rellenados con el aspirado. Finalizada la inyección de la suspensión, se reintroduce la trefina o aguja del trócar para minimizar la fuga del producto celular a través del mismo. En algunas ocasiones puede suceder que la presión requerida para la inyección sea bastante alta y ocasione la fuga de contenido a través del trócar, sin ser éste un problema.
- Tratamiento postoperatorio:
  - Analgesia según protocolo y a demanda.
  - Profilaxis tromboembólica con enoxaparina según el peso del paciente.
  - Reposo en cama 24 horas.
  - Ejercicios activos del pie, tobillo, rodilla y cadera sin carga.
  - Levantar a las 48 horas y deambular sin carga de la extremidad utilizando bastones ingleses, manteniendo el miembro en descarga durante una o dos semanas. A partir de ahí la carga total se permite según tolerancia individual.
- Complicaciones:
 

El número de complicaciones es muy bajo con esta técnica. Al realizarse junto a la DN suelen tratarse de las propias de dicho proceso, pudiendo añadir las siguientes en una despreciable frecuencia.

  - Morbilidad de la zona donante.
  - Riesgo de embolismo graso durante la infusión intraósea.
  - Reacción alérgica a algún compuesto para el mantenimiento de las CSM.
  - Ciertos países imponen limitaciones en cuanto al manejo y manipulación de CSM.



**Figura 5. Proceso quirúrgico de forage y administración CSM. A.** Posición del paciente y colocación de escopia. **B.** Material necesario. **C.** Introducción de la aguja guía. **D.** Posterior brocado con fresa. **E y F.** Comprobación bajo escopia de la penetración de la lesión necrótica. **G y H.** Introducción del trócar y nueva comprobación bajo escopia del alcance de la lesión. **I.** Infusión de CSM.

## 4.4 Seguimiento y evaluación del paciente

### 4.4.1 Desarrollo del ensayo

#### Selección del paciente.

La selección de los pacientes candidatos se realizó desde la consulta de Traumatología del HUS. En esta visita, y una vez realizada la evaluación clínica y radiológica habitual, en respuesta a la demanda de asistencia por la que acude, el paciente potencialmente apto para el estudio fue informado de los objetivos del estudio y de los requisitos globales. Se obtuvo el consentimiento informado antes de cualquier evaluación específica del estudio. A continuación, se realizó al paciente una evaluación clínica para asegurar el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.

En la historia clínica del paciente se registró la aceptación del sujeto a participar en el ensayo clínico CSM/ON/2011, la fecha de la firma del consentimiento, el número de paciente asignado y el promotor del estudio. Además, se anotó la fecha de la visita y se recopilaron los siguientes datos:

- Presentación del consentimiento informado por escrito.
- Historia médica, incluyendo enfermedades concomitantes y medicación, tratamiento de soporte y condiciones médicas basales.
- Exploración física completa.
- Test de embarazo en suero en mujeres fértiles.
- Rx simple anteroposterior y axial de ambas caderas.
- Escala del nivel de dolor: EVA.
- Cuestionario de calidad de vida: SF 36.
- Situación laboral.
- Estudio preoperatorio habitual, incluida la consulta preanestésica.

Una vez obtenidos los resultados de todos los procedimientos arriba mencionados, y comprobado que se cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, el paciente podía continuar en el estudio. Si, por lo contrario, el paciente no cumplía con los

criterios de inclusión no podía continuar en el estudio y debía registrarse en el cuaderno de recogida de datos (CRD) el motivo de la no selección del paciente.

#### Extracción de MO.

El procedimiento de extracción de MO se describe en el apartado 4.2.1. En la historia clínica y en el CRD se recogieron los siguientes datos:

- Fecha de la visita: es la fecha de la extracción.
- Signos vitales (tensión arterial, frecuencia cardíaca) y peso.
- Cantidad de MO extraída (aproximadamente de 40 ml).
- Hora de la extracción.
- Posibles complicaciones durante la extracción de MO. En el caso de que hubieran tenido lugar, se registraron en la página de acontecimientos adversos del CRD.

En la historia clínica y en el CRD del paciente se recogen todos los acontecimientos adversos (AA) y medicaciones concomitantes desde la inclusión del paciente en el estudio hasta su finalización.

#### Expansión de las células mesenquimales de MO.

Se realizó en la Unidad de Producción Celular del HUS. El proceso de cultivo y expansión tuvo una duración aproximada de 2-4 semanas y se describe en el apartado 4.2.2.

En la historia clínica del paciente y en el CRD constan los siguientes datos:

- Fecha de inicio y fecha de finalización de la expansión de las CSM.
- Fecha de caducidad de las células.
- Número de células obtenidas.
- Número de jeringas.
- Fenotipo celular.
- Ensayos de diferenciación.
- Cariotipo.
- Viabilidad (%).
- Controles microbiológicos: test de esterilidad, Gram urgente y ensayo de micoplasma.
- Incidencias que hayan podido tener lugar durante el proceso de expansión.

Una vez conseguida la expansión de las células mesenquimales se realizó la administración al paciente en el HUS.

#### Administración de las células mesenquimales de MO al paciente.

Tuvo lugar aproximadamente entre 3-4 semanas después de la extracción de la MO, una vez finalizado el proceso de expansión de las células. El procedimiento de administración de las CSM se describe en el apartado 4.3.2. En la historia clínica del paciente y en el CRD constan los siguientes datos:

- Fecha de la visita.
- Hora de la administración de las CSM.
- Signos vitales (tensión arterial, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria) y peso.
- Número de CSM infundidas y número de jeringas.
- Complicaciones durante el procedimiento: en caso de producirse se registraron como AA en la página correspondiente del CRD.

#### Valoración postquirúrgica.

Con el fin de analizar la seguridad del proceso, a las 24 horas de la administración de las células mesenquimales de MO, se valoró el estado general del paciente durante el ingreso. En la historia clínica y en el CRD del paciente se recogieron:

- AA si los hubiese.
- Medicaciones concomitantes de la visita previa.
- Signos vitales (tensión arterial, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria).

En el caso de que la hospitalización del paciente por la infusión de las CSM se hubiese prolongado más de lo esperado debido a alguna complicación surgida desde su ingreso, se registraría en el CRD como acontecimiento adverso grave (AAG), y se notificaría al monitor del estudio en el plazo de 24h en que haya tenido lugar.

### **4.4.2 Seguimiento y evolución postimplantación**

Consideramos como inicio del seguimiento ya el primer día de ingreso tras la cirugía. Los pacientes que completaron el periodo de tratamiento y los que discontinuaron

prematuramente independientemente de la razón, realizaron visitas de seguimiento aproximadamente en el 1º, 3º y 6º mes hasta el año del trasplante, recogiendo en cada revisión los siguientes datos evolutivos:

- Parámetros clínicos:
  - Dolor: mediante la evaluación seriada de la EVA.
  - Función: mediante la evaluación de la escala de Harris.
  - Calidad de vida: mediante la evaluación del cuestionario SF-36.
- Estatus laboral:
  - Incapacidad, cambio de actividad o reincorporación laboral.
- Parámetros radiológicos:
  - Objetivación de la evolución radiológica mediante RM y Rx simple.  
Durante el seguimiento se ha ido realizando no solo un control clínico de los sujetos, sino también comparativo mediante distintas Rxs de ambas caderas, AP y axial, en todas las visitas, y mediante RM en las dos últimas fechas. Las imágenes han sido evaluadas por un radiólogo especialista en sistema musculoesquelético, determinando si había habido una mejoría, empeoramiento o estabilización de la ONCF. Además, en las RM ha objetivado el estadio según la clasificación de ARCO, calculando el volumen relativo de la lesión necrótica y expresándolo en porcentaje respecto al total de la cabeza femoral y, comparando mediante la prueba pre-intervención, su evolución a lo largo del estudio.

A continuación describiremos de forma detallada el seguimiento que se realizó en cada una de estas visitas:

#### Seguimiento hospitalario:

Visita diaria hasta el alta hospitalaria, cuya duración estuvo en función de la evolución clínica. Para ello se tuvo en cuenta:

- Parámetros clínicos:
  - Dolor y capacidad funcional (deambulacion con bastones).
  - Ausencia de signos y síntomas de complicación: fiebre, estado de la herida quirúrgica o signos de TVP.
  - Actividades de la vida diaria (AVDs) básicas autónomas (comer, defecar, orinar, etc.).

- Parámetros analíticos:
  - Normalidad de hemograma, coagulación y bioquímica.

#### Seguimiento al mes del alta hospitalaria:

Primera visita postoperatoria en consulta. En esta primera consulta no es posible apreciar ni estimar el posible resultado, y tiene interés para evaluar la evolución clínica especialmente relacionada con la aparición de complicaciones.

- Anamnesis.
- Exploración física completa.
- Recogida de datos: especial atención a la situación clínica del paciente.
  - Clínicos: EVA.
  - Funcionales: cumplimentación de la escala de Harris.

#### Seguimiento a los 3 meses:

- Anamnesis.
- Exploración física completa.
- Recogida de datos: situación clínica del paciente.
  - Clínicos: EVA.
  - Funcionales: cumplimentación de Escala de Harris.
  - Calidad de vida: cumplimentación del cuestionario SF-36.
- Rx AP y axial de ambas caderas.

#### Seguimiento a los 6 meses:

- Anamnesis.
- Exploración física completa.
- Recogida de datos: situación clínica del paciente.
  - Clínicos: EVA.
  - Funcionales: cumplimentación de Escala de Harris.
  - Calidad de vida: cumplimentación del cuestionario SF-36.
- Rx AP y axial de ambas caderas.
- RM de las caderas.

Seguimiento a los 12 meses:

Durante la visita de fin de tratamiento se realizaron las siguientes evaluaciones:

- Anamnesis.
- Exploración física completa.
- Recogida de datos: situación clínica del paciente.
  - Clínicos: EVA.
  - Funcionales: cumplimentación de Escala de Harris.
  - Calidad de vida: cumplimentación del cuestionario SF-36.
- Rx AP y axial de ambas caderas.
- RM de las caderas.
- Documentación de la medicación concomitante y tratamientos de soporte.
- Documentación de efectos adversos que sucedieron durante el periodo de tratamiento.

**Tabla 6. Seguimiento y parámetros valorados en cada visita.**

Seguimiento PO	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4
<u>Durante el ingreso</u>	<u>1º mes PO</u>	<u>3º mes PO</u>	<u>6º mes PO</u>	<u>12º mes PO</u>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Situación clínica y escala EVA</li> <li>• Analítica postoperatoria</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Situación clínica y escala EVA</li> <li>• Rx AP y axial</li> <li>• Cuestionario Harris</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Situación clínica y escala EVA</li> <li>• Rx AP y axial</li> <li>• Cuestionarios Harris y SF-36</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Situación clínica y escala EVA</li> <li>• Rx AP y axial</li> <li>• RM</li> <li>• Cuestionarios Harris y SF-36</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Situación clínica y escala EVA</li> <li>• Rx AP y axial</li> <li>• RM</li> <li>• Cuestionarios Harris y SF-36</li> </ul>

#### 4.4.3 Definición del fracaso terapéutico

El fracaso terapéutico se definió por la presencia de al menos una de las siguientes circunstancias:

- Empeoramiento de la sintomatología dolorosa.
- Progresión de la necrosis: colapso.
- Necesidad de realizar una artroplastia total de la cadera.

#### 4.4.4 Criterios y análisis previsto de las retiradas y abandonos

Los pacientes fueron informados que podían abandonar el ensayo clínico en el momento que ellos quisiesen sin que ello conllevara algún perjuicio para su atención médica posterior.

Igualmente, los pacientes hubieran interrumpido el ensayo clínico si hubiese ocurrido al menos una de las siguientes situaciones:

1. Obtención de menos de  $0.5 \times 10^6$  CSM por kilo de peso corporal del receptor después de la expansión celular.
2. Presencia de algún AAG anterior a la aplicación de las CSM.
3. Bajo nuestro criterio como investigadores:
  - Cuando el paciente no cooperase o no cumpliera los requerimientos del estudio:
    - Violación grave del protocolo.
    - Retirada del consentimiento por el paciente.
    - Negación a recibir el tratamiento.
    - Exigencia del propio paciente.
    - No cumplimiento con las visitas establecidas.
    - Pérdida de seguimiento.
  - Cuando considerásemos que la salud del paciente estaba comprometida.
  - AAG que a nuestro juicio obligase a la retirada (toxicidad grado IV en la escala de efectos adversos de la OMS).
  - Enfermedad concomitante.

- Razones administrativas.
- Cambios específicos o generales en el paciente que hiciera que, a nuestro criterio, no debieran recibir más medicación.

En el momento de abandonar el ensayo, la causa principal para la retirada de éste debía ser recogida en el CRD (si se diera más de un motivo, se debía dar el motivo principal) y el paciente tendría que ser reevaluado con las pruebas requeridas en la visita de “fin de tratamiento”. En caso de que la causa se debiera a la decisión del propio paciente, éste no estaría obligado a dar explicación alguna por ello.

Hay que señalar que, una vez que el paciente recibiese la administración del producto en investigación (una única dosis), la retirada del estudio no le aportaría ningún beneficio en cuanto a su seguridad, por lo que se le recomendaría su continuidad en el mismo. Si hubiésemos dejado de tener noticias de un paciente, se deberían haber hecho todos los intentos de ponerse en contacto con él/ella (a no ser que el paciente hubiese expresado claramente el deseo contrario) para obtener la fecha en que se interrumpió el seguimiento, establecer el motivo de la interrupción, pedir al paciente que reanude los procedimientos del estudio o para que acuda al menos a una última visita y poder sugerirle que facilite los detalles de contacto del médico que seguirá su caso. Si todos los intentos de ponerse en contacto con el paciente hubieran fallado, se pediría que todas las acciones puestas en práctica se documenten en la historia clínica, y si no pudiesen obtenerse los datos claves del estudio antes de la visita final, el investigador declararía entonces al paciente como “perdido para seguimiento”. Destacamos que todo sujeto que abandonase el ensayo por cualquier motivo, no podría haber vuelto a ser incluido.

Según la buena práctica clínica, a todos los pacientes que hubieran dejado prematuramente el estudio se les hubiera recomendado un tratamiento alternativo. Si la retirada hubiera sido debida a un AA significativo, los pacientes hubieran sido controlados hasta la finalización adecuada, es decir, hasta que desaparezca el AA o hasta que se determine que es permanente.

Asimismo, el estudio en su conjunto podría haberse interrumpido si se cumpliera durante su desarrollo cualquiera de las siguientes circunstancias:

- Toxicidad grave relacionada con la administración celular en 3/10 pacientes.
- Respuesta <3/10 pacientes.

- Infecciones graves >6/10 pacientes.
- Mortalidad relacionada con el procedimiento  $\geq 2/10$  pacientes.
- Falta de inclusión de un mínimo de 5 pacientes en los primeros 18 meses desde su aprobación y distribución.

#### **4.4.5 Monitorización**

Se llevó a cabo de forma periódica, con fechas de visita 12/03/2013, 07/05/2014 y 03/05/2016, por el monitor del ensayo (Gradocell Pharma), para asegurar que se salvaguardaban los derechos y el bienestar de los pacientes, que se cumplía el protocolo, la normativa vigente, los requisitos éticos, que la documentación necesaria estaba disponible y que los datos recogidos reflejaban exactamente los datos del CRD.



## **RESULTADOS**



## 5. Resultados

### 5.1 Características de la población a estudio

Para la valoración estadística de los resultados se utilizó el software SPSS (versión 25.0; SPS, Chicago, USA).

Se incluyeron en este ensayo clínico 8 pacientes con ONCF, con un periodo de seguimiento desde la cirugía de un año. El total de los pacientes incluidos en el estudio eran varones, y la edad media al diagnóstico estuvo por debajo de los 50 años (Tabla 7), datos que concuerdan con los valores medios de la bibliografía estudiada.

**Tabla 7. Edad.**

	N	Rango	Mínima	Máxima	Media
Edad (años)	8	22	40	62	49,25

En la tabla 8 figuran los valores de las constantes basales de los pacientes al comienzo del estudio. Encontramos unos valores de tensión arterial (TA) media de máxima 124,25 mmHg (intervalo de confianza del 95%, 115,24-133,26) y mínima 77,25 mmHg (intervalo de confianza del 95%, 72,55-81,96), lo cual a pesar de contar con 3 pacientes hipertensos demuestra cifras controladas, dentro de parámetros normales. El peso medio fue de 84,5 Kg, y la estatura de 175,62 cm, con un índice de masa corporal medio (IMC) de 27,38 (intervalo de confianza del 95%, 25,78-28,98), que manifiesta la presencia de sobrepeso tipo II de forma general en la serie analizada. Debe destacarse la disminución del peso medio de los pacientes en 2,250 Kg tras la finalización del estudio.

**Tabla 8. Variables basales de los pacientes.**

	N	Rango	Mínima	Máxima	Media	Error estándar de la media
TA basal sistólica (mmHg)	8	43	107	150	124,250	4,597
TA basal diastólica (mmHg)	8	15	70	85	77,250	2,396
Peso basal (Kg)	8	25	70	95	84,500	2,897
Peso final tratamiento (Kg)	8	25	70	95	82,250	2,547
Estatura (cm)	8	13	171	184	175,625	1,534
IMC basal	8	6,89	22,86	29,75	27,3863	0,816

TA: tensión arterial. mmHg: milímetros de mercurio. Kg: kilogramos. cm: centímetros. IMC: índice de masa corporal.

A continuación, figura la existencia o no de factores de riesgo cardiovascular (Tabla 9). Ningún paciente padecía diabetes mellitus, la mitad de ellos presentaba una alteración de los valores de colesterol y/o triglicéridos y 3 de ellos asociaban también hipertensión arterial.

**Tabla 9. Riesgo Cardiovascular previo.**

	No (%)	Sí (%)	Total (%)
Diabetes	8 (100)	0 (0)	8 (100)
Dislipemia	4 (50)	4 (50)	8 (100)
HTA	5 (62,5)	3 (37,5)	8 (100)

Se valoró igualmente de forma global la presencia de otro tipo de enfermedades concomitantes a la ONCF, tanto médicas (asma, EPOC, esteatosis hepática...) como psiquiátricas (trastornos de ansiedad o pánico, depresión, estrés...). El 50% (4 pacientes) presentaba algún tipo de enfermedad orgánica sin relación con la osteonecrosis, y un solo paciente padecía un trastorno depresivo menor (Tabla 10).

**Tabla 10. Patología previa distinta.**

	No (%)	Sí (%)	Total (%)
Médica	4 (50)	4 (50)	8 (100)
Psicológica	7 (87,5)	1 (12,5)	8 (100)

En cuanto a la presencia de hábitos nocivos, y sabida su posible relación etiológica con la ONCF, vemos cómo el alcohol y el tabaco son factores presentes habitualmente, en mayor o menor medida, con un 87,5% (7 pacientes) y 75% (6), respectivamente. Respecto a la distribución de la ingesta de alcohol, el 75% podían considerarse bebedores habituales, es decir, consumen más de 300 ml de alcohol (equivalente a 3 botellas de vino, por ejemplo) a la semana (Tablas 11 y 12).

**Tabla 11. Bebedor.**

	Frecuencia	Porcentaje
No	1	12,5
Ocasional	1	12,5
Moderado	4	50
Excesivo	2	25
Total	8	100

**Tabla 12. Fumador.**

	Frecuencia	Porcentaje
No	2	25
Sí	6	75
Total	8	100

El uso de corticoides, también uno de los principales factores etiológicos, se presentó como factor concomitante en 2 casos (Tabla 13).

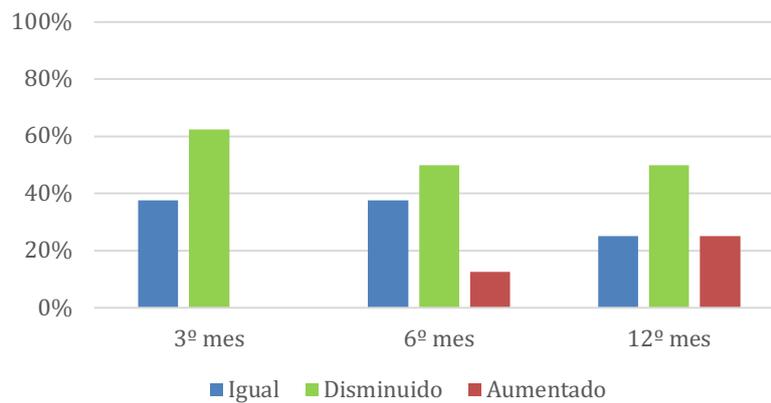
**Tabla 13. Uso de corticoides.**

	Frecuencia	Porcentaje
No	6	75
Sí	2	25
Total	8	100

Se observó que en el momento del diagnóstico todos los pacientes estaban bajo tratamiento analgésico por dicha causa. En cuanto a la evolución en la toma de analgesia a consecuencia de esta patología, observamos cómo al 3º mes se produce el descenso más llamativo, pasando a disminuir o incluso abandonar el tratamiento por la mayoría de pacientes (62,5%). A partir del 6º mes parecen estabilizarse los cambios, siendo similares a los hallados al año de seguimiento, cuando se constata una disminución de la toma de medicación en el 50% de los pacientes, una estabilización en el 25%, es decir, mantienen dosis y posología similar, y un aumento de la toma en el restante 25% (Tabla 14 y Figura 5).

**Tabla 14. Tratamiento analgésico post-implantación celular.**

	3º mes	6º mes	12º mes
Igual	3 (37,5%)	3 (37,5%)	2 (25%)
Disminuido	5 (62,5%)	4 (50%)	4 (50%)
Aumentado	0 (0%)	1 (12,5%)	2 (25%)
Total	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)

**Figura 6. Consumo de analgésicos en las visitas de seguimiento.**

En relación a la actividad laboral de los pacientes incluidos en el estudio, se revela que al comienzo de éste, únicamente 2 sujetos, es decir el 25%, mantenía su actividad laboral diaria, mientras que el resto se encontraba sin ejercer un trabajo, ya fuese por encontrarse en paro en dicho momento (25%), o de baja por este proceso u otra patología concomitante (50%). La única variación encontrada durante el seguimiento fue la de un paciente que pasó de estar en situación de baja laboral a reincorporarse a su puesto de trabajo tras el tratamiento (Tabla 15).

**Tabla 15. Situación laboral.**

	Inicio	1º mes	3º mes	6º mes	12º mes
Activo	2 (25%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	3 (37,5%)
Paro	2 (25%)	2 (25%)	2 (25%)	2 (25%)	2 (25%)
Baja	4 (50%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)	3 (37,5%)
Total	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)

Tal y como se ha mencionado en la introducción, según la bibliografía descrita se estima un porcentaje mayor del 50% de bilateralidad de ONCF en el momento del diagnóstico, llegando incluso algunos estudios a cifrarla en un 88%. Esto concuerda con nuestra muestra, donde al inicio del estudio el porcentaje de afectación de osteonecrosis en ambas caderas era del 75%, es decir estaba presente en 6 de los 8 pacientes estudiados (Tabla 16).

**Tabla 16. Presencia de ONCF en una o ambas caderas al inicio.**

	Frecuencia	Porcentaje
Unilateral	2	25
Bilateral	6	75
Total	8	100

En la tabla 17 figura cómo previamente al inicio del tratamiento, un solo paciente mantenía cierta actividad deportiva a pesar de su patología, mientras que el resto o no practicaba, o lo hacía en muy poca medida. Al final del seguimiento, la actividad física por parte del 37,5% aumenta, mientras que en el 50% se mantiene estable. Únicamente un paciente refiere haberla disminuido (Tabla 18).

**Tabla 17. Actividad física previa.**

	Frecuencia	Porcentaje
No	4	50
Sí, < 1 vez/mes	3	37,5
Sí, > 1 vez/mes	1	12,5
Total	8	100

**Tabla 18. Actividad física tras la finalización del estudio.**

	Frecuencia	Porcentaje
Igual	4	50
Aumenta	3	37,5
Disminuye	1	12,5
Total	8	100

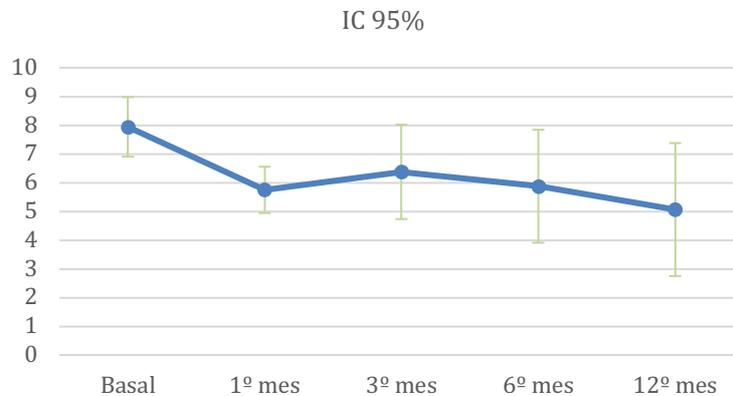
## 5.2 Resultados de los cuestionarios

Como ya hemos descrito anteriormente, en este estudio se utilizaron 3 cuestionarios o escalas: la escala visual analógica del dolor, el cuestionario Harris de cadera y el cuestionario de salud SF-36. A continuación se desglosan sus resultados.

En cuanto a la EVA, en la siguiente tabla podemos apreciar los resultados a lo largo del estudio. Observamos cómo al inicio, el valor mínimo de dolor ya partía por encima de la mitad, con un 6 de mínima y unos valores de media y mediana cercanos al 8. A lo largo del seguimiento post-infusional se aprecia cómo se produce una disminución de esa sensación subjetiva de dolor, llegando a obtener en algún caso una remisión completa, y unos valores de media y mediana cercanos al 5 en la última visita (Tabla 19). Es de consideración según estos datos, cómo parece existir una mejoría casi inmediata de la percepción del dolor tras la cirugía, que empeora levemente al 3º mes, y vuelve a disminuir a partir del 6º hasta apreciarse al año de seguimiento, los valores más bajos (Figura 6).

**Tabla 19. Valores de la escala visual analógica del dolor (EVA).**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínima	Máxima
Basal	7,94	7,75	0,529	6	10
1º mes	5,75	5,5	0,411	4	8
3º mes	6,375	7	0,838	3	10
6º mes	5,875	5,5	1,003	2	10
12º mes	5,063	5	1,181	0	10

**Figura 7. Evolución de los valores medios de la EVA.**

Para el cuestionario Harris analizaremos los datos de sus 5 apartados de forma independiente. El apartado *dolor* lo dividimos en 6 peldaños según la sensación de cada paciente, con una puntuación mayor cuanto menor sea el dolor. En su evolución observamos una mejoría de las cifras, con una diferencia de más de 8 puntos en la media entre la basal y final. Al inicio encontramos unos valores medios de 16,25 (intervalo de confianza del 95%, 7,852-24,648), mientras que al final del seguimiento el valor asciende a 24,62 (intervalo de confianza del 95%, 13,97-35,27) (Tabla 20).

**Tabla 20. Valores cuestionario Harris. Apartado Dolor.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	16,25	10	4,199	0	30
1º mes	22,5	20	3,133	10	40
3º mes	25,5	25	5,233	10	44
6º mes	21,25	20	5,153	0	40
12º mes	24,625	21,5	5,434	10	44

En cuanto al apartado *función*, se divide en 3 categorías según la capacidad de cada paciente para deambular sin cojera, la necesidad de utilizar un soporte externo como puede ser un bastón o andador, y la distancia que es capaz de recorrer libre de molestias. Así mismo, observamos una mejoría de la capacidad funcional general de los pacientes sometidos a tratamiento. Se aprecia una recuperación objetivable de 5 puntos aproximadamente, con un valor inicial de 17,62 (intervalo de confianza del 95%, 11,38-23,86) que llega a 22,25 al final del seguimiento (intervalo de confianza del 95%, 15,18-29,31) (Tabla 21).

**Tabla 21. Valores cuestionario Harris. Apartado Función.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	17,625	20	3,184	2	30
1º mes	18,75	19	3,985	2	33
3º mes	21	25,5	3,122	2	27
6º mes	22,25	22	2,234	13	30
12º mes	22,25	24	3,604	5	33

## Resultados

Dentro del apartado *actividad* se engloban acciones cotidianas que el paciente puede hacer a lo largo de un día normal, tales como subir escaleras, calzarse, sentarse o utilizar el transporte público. Vemos como durante el estudio se mantiene la tendencia al aumento de esas actividades, pasando de un valor medio de 8,25 inicial (intervalo de confianza del 95%, 6,65-9,85) a 9,12 final (intervalo de confianza del 95%, 6,34-11,9) (Tabla 22). A pesar de ello, este apartado es de los que presenta una menor evolución a lo largo del seguimiento.

**Tabla 22. Valores cuestionario Harris. Apartado Actividad.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	8,25	7	0,818	6	13
1º mes	8,75	8	0,773	7	13
3º mes	8,25	8,5	1,081	2	11
6º mes	8,5	8	1,052	5	13
12º mes	9,125	10,5	1,419	3	13

En la categoría de *ausencia de deformidad* no existe ninguna variación a lo largo del estudio (Tabla 23), pues ningún paciente reunió criterios suficientes para considerar una deformidad fija en flexión, aducción, rotación interna o flexión, o una disimetría mayor de 3,2 cm.

**Tabla 23. Valores cuestionario Harris. Apartado Ausencia de deformidad.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	4	4	0	4	4
1º mes	4	4	0	4	4
3º mes	4	4	0	4	4
6º mes	4	4	0	4	4
12º mes	4	4	0	4	4

En *movilidad*, se establece la medición completa del balance articular de la cadera, cuantificando en grados los movimientos de flexión, abducción, adducción, rotación externa e interna. En función de la suma total de grados establecemos una puntuación entre 1 y 6 puntos. Obsérvese cómo a pesar de presentar desde la situación inicial una considerable movilidad articular, a partir del 6º mes del tratamiento los valores se incrementan al máximo para todos los pacientes (Tabla 24).

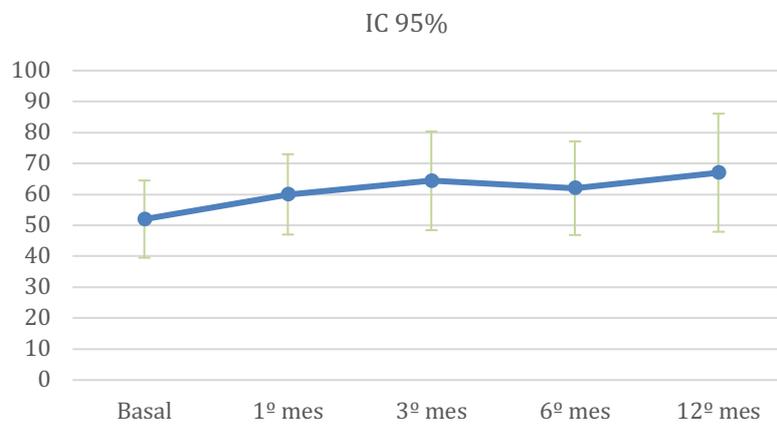
**Tabla 24. Valores cuestionario Harris. Apartado Movilidad.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	5,625	6	0,263	4	6
1º mes	5,875	6	0,125	5	6
3º mes	5,875	6	0,125	5	6
6º mes	6	6	0	6	6
12º mes	6	6	0	6	6

Por último, en términos totales se aprecia una mejoría considerable de los valores medios respecto a la situación basal, pasando de una media de 52 (intervalo de confianza del 95%, 39,54-64,46) a 67 (intervalo de confianza del 95%, 47,92-86,08), a pesar de obtener al año uno de los valores mínimos en un paciente (Tabla 25 y Figura 7).

**Tabla 25. Valores cuestionario Harris. Totales.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	52	48	6,369	28	83
1º mes	60	58,5	6,627	39	86
3º mes	64,375	67,5	8,132	24	92
6º mes	62	54	7,722	40	93
12º mes	67	65,5	9,739	28	100



**Figura 8. Evolución de los valores medios totales del cuestionario Harris.**

Respecto al cuestionario SF-36, mediante la estandarización de los valores globales y suponiendo unos valores medios para la población española de 50, podemos hacernos a la idea de la situación global tanto física como mental de los sujetos estudiados, que presentan unos valores basales de situación física muy por debajo de la media poblacional

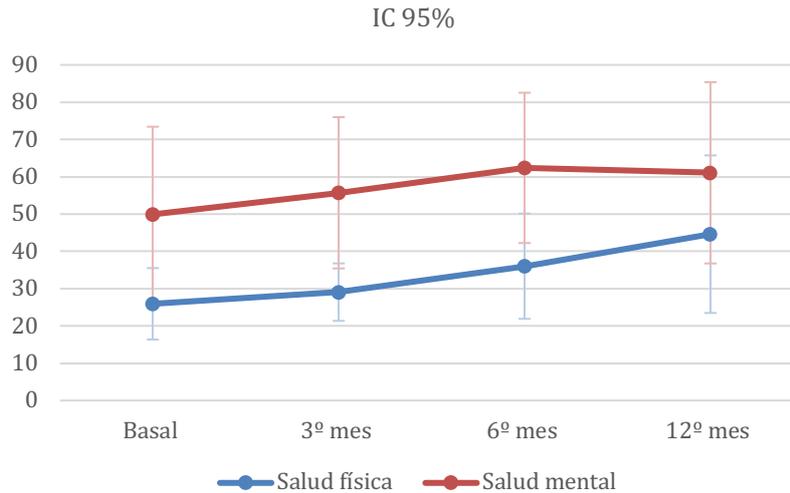
y siendo algo mejores en la situación mental, aunque igualmente por debajo de la media (Tablas 26 y 27). Podemos apreciar un ascenso continuo tanto para los valores globales de salud física como mental a lo largo del seguimiento (Figura 8).

**Tabla 26. Cuestionario SF-36. Valores globales de salud física.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	25,937	25,625	4,885	6,25	44,375
3º mes	29,062	27,812	3,931	12,5	48,125
6º mes	36,015	34,687	7,199	11,25	73,125
12º mes	44,609	38,125	10,780	10	83,75

**Tabla 27. Cuestionario SF-36. Valores globales de salud mental.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	49,922	51,125	11,99	7,375	88,5
3º mes	55,703	62,25	10,351	7,625	91,5
6º mes	62,381	70,187	10,283	6,5	91,25
12º mes	61,062	72,125	12,4	7,75	99



**Figura 9. Evolución de los valores medios globales de salud física y mental del cuestionario SF-36.**

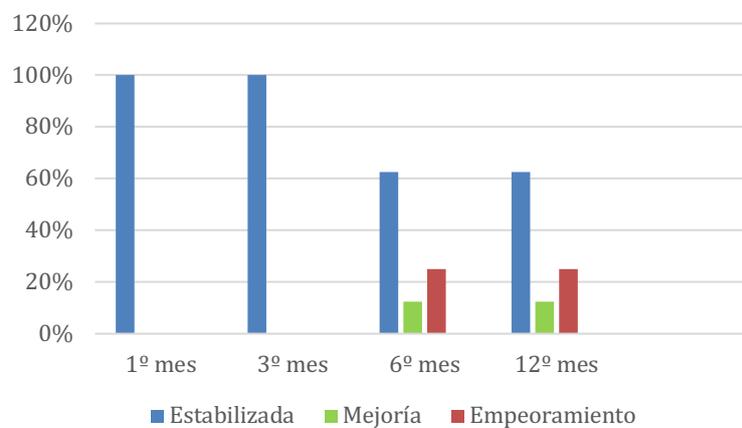
### 5.3 Evolución de las pruebas de imagen

Las imágenes han sido evaluadas por un radiólogo especialista en sistema musculoesquelético, determinando en las placas radiográficas si había habido una mejoría, empeoramiento o estabilización de la ONCF, y en las RM estableciendo el estadio según la clasificación ARCO, calculando el volumen relativo de lesión necrótica y expresándolo en porcentaje respecto al total de la cabeza femoral, y comparando, mediante la prueba pre-intervención, su evolución a lo largo del estudio.

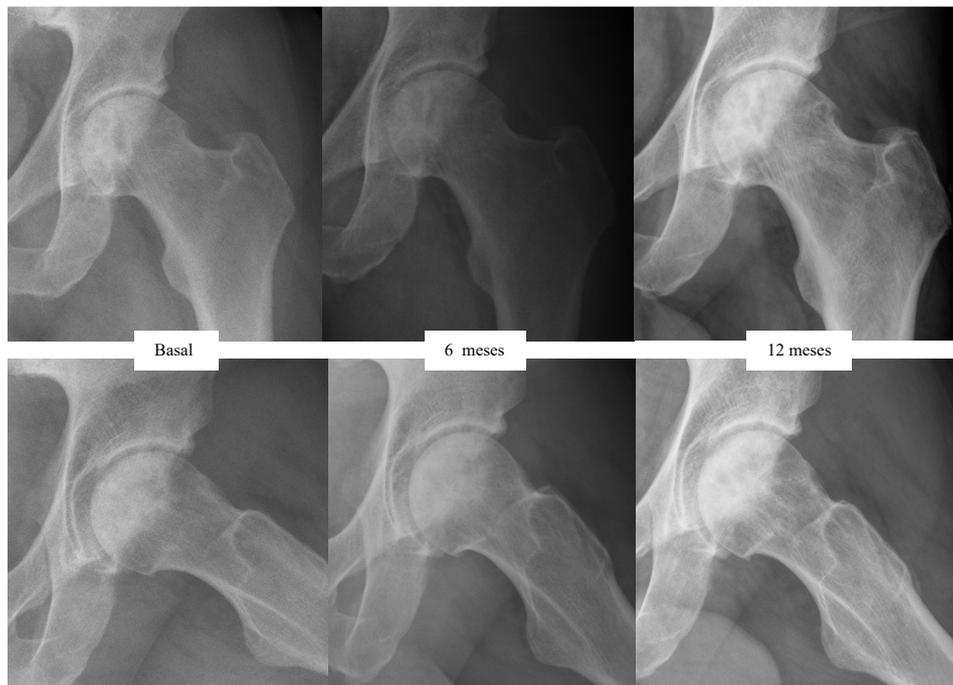
En la evolución radiográfica durante el año pueden destacarse varios hechos según los datos recogidos: primero, los cambios en un sentido u otro aparecen en cualquier caso a partir del 6º mes, no siendo evidentes en etapas más iniciales; segundo, se consigue la estabilización radiográfica en la mayoría de pacientes, cinco (62,5%), durante el primer año postquirúrgico; y tercero, dos pacientes (25%) presentan una progresión de la zona de necrosis, mientras que en uno (12,5%) se evidencian signos de reosificación (Tabla 28 y Figura 9).

**Tabla 28. Cambios radiográficos.**

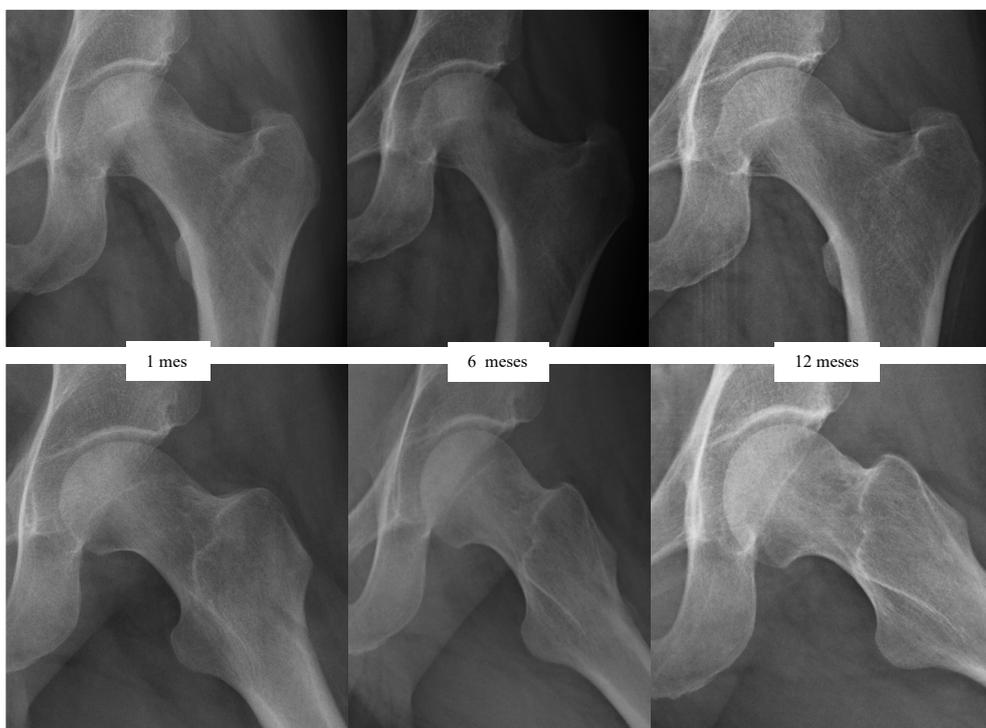
	1º mes	3º mes	6º mes	12º mes
Estabilizada	8 (100%)	8 (100%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)
Mejoría	0 (0%)	0 (0%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)
Empeoramiento	0 (0%)	0 (0%)	2 (25%)	2 (25%)
Total	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)



**Figura 10. Evolución de los cambios radiográficos.** Se aprecia como los cambios en las imágenes surgen a partir del 6º mes.



**Figura 11.** *Secuencia de Rx AP y axiales en el paciente 04. Obsérvese la estabilización radiográfica del proceso durante el año con las apenas existencia de cambios a excepción de los producidos por la perforación.*



**Figura 12.** *Secuencia de Rx AP y axiales en el paciente 05. También puede apreciarse en la secuencia desde el mes del procedimiento la inexistencia de cambios radiográficos posteriores.*

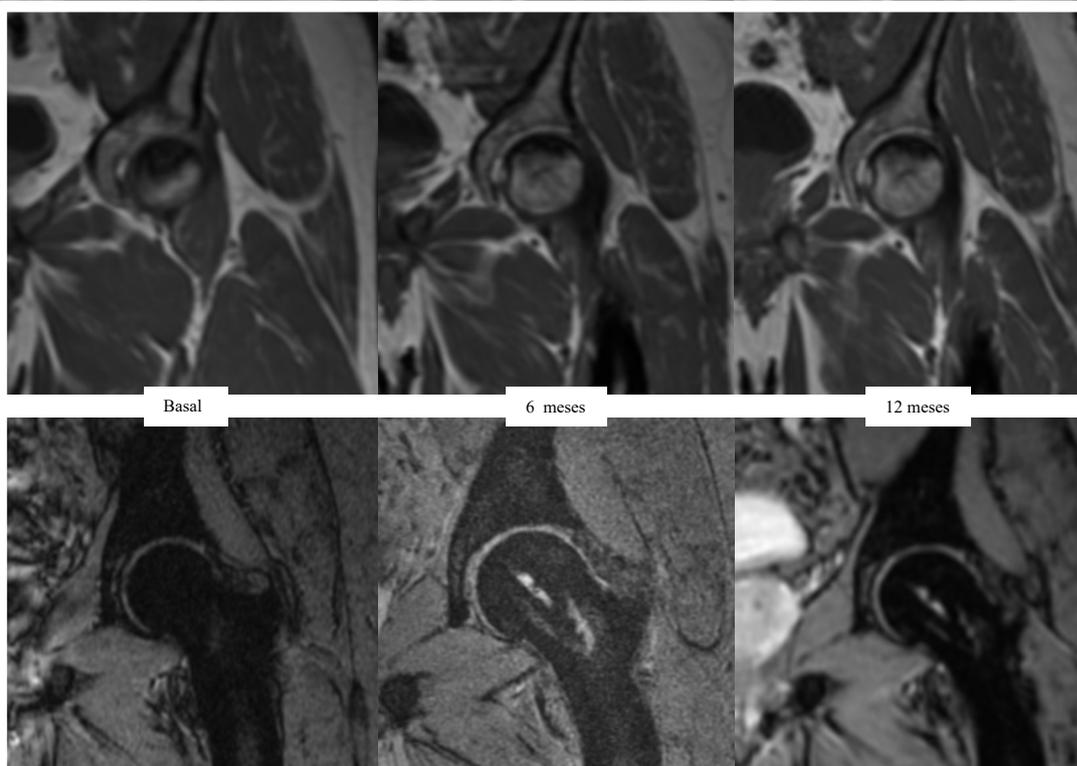


**Figura 13. Secuencia de Rx AP en el paciente 01.** En esta secuencia en cambio, sí observamos uno de los casos en los que se produjo una evolución al colapso subcondral y la necesidad de una ATC posterior al finalizar el seguimiento.

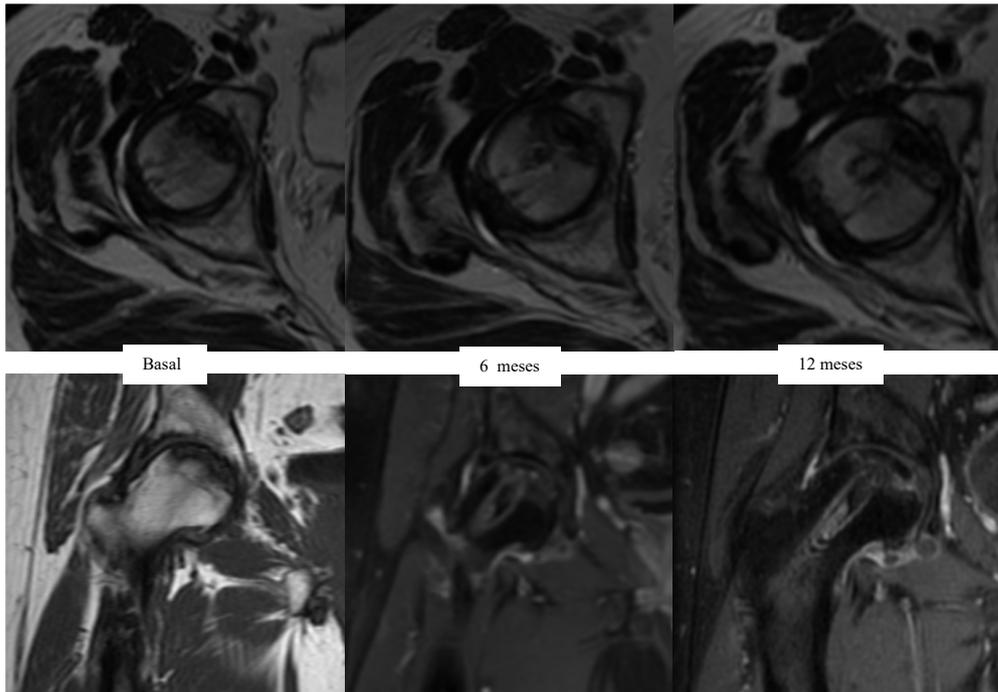
En cuanto a la evolución en las imágenes de la RM (Tabla 29) vemos un patrón similar al de las Rx, solo que más objetivable seguramente en relación a la mayor calidad del estudio. Partimos de 2 pacientes en estadio 1A de la clasificación de ARCO (25%), 2 en 2A (25%), y 4, la proporción más grande, en 2B (50%). De la misma manera, se aprecia una estabilización en el estadiaje del cuadro postcirugía en 7 de los 8 pacientes estudiados (87,5%), habiendo solo un caso (12,5%) que evoluciona de un grado IIB a un grado IIIA, al presentar colapso subcondral de la cabeza femoral, siendo ya evidenciado a partir del 6º mes.

**Tabla 29. Estadios RM (ARCO).**

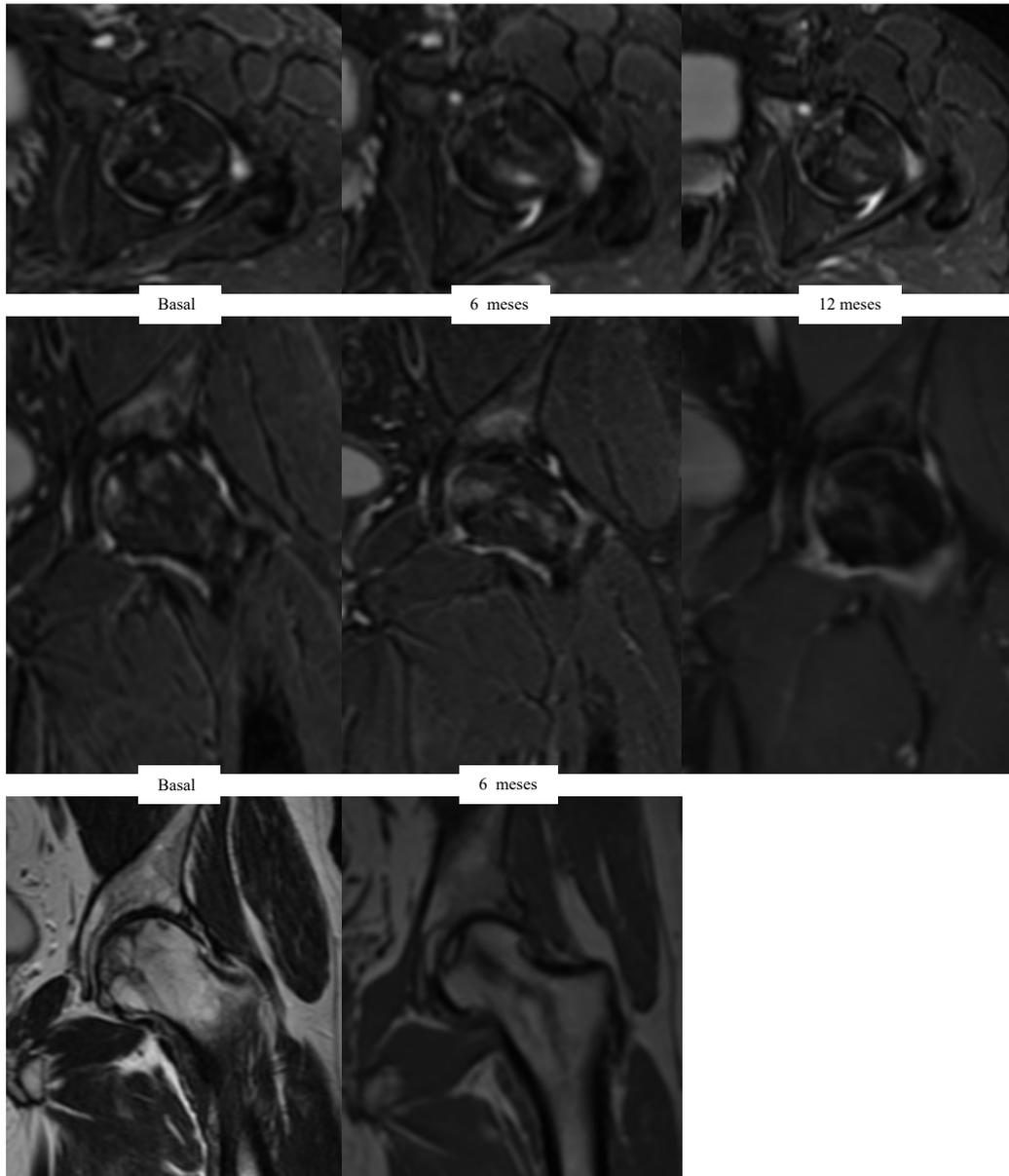
	Basal	6° mes	12° mes
1A	2 (25%)	2 (25%)	2 (25%)
2A	2 (25%)	2 (25%)	2 (25%)
2B	4 (50%)	3 (37,5%)	3 (37,5%)
3A	0 (0%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)
Total	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)



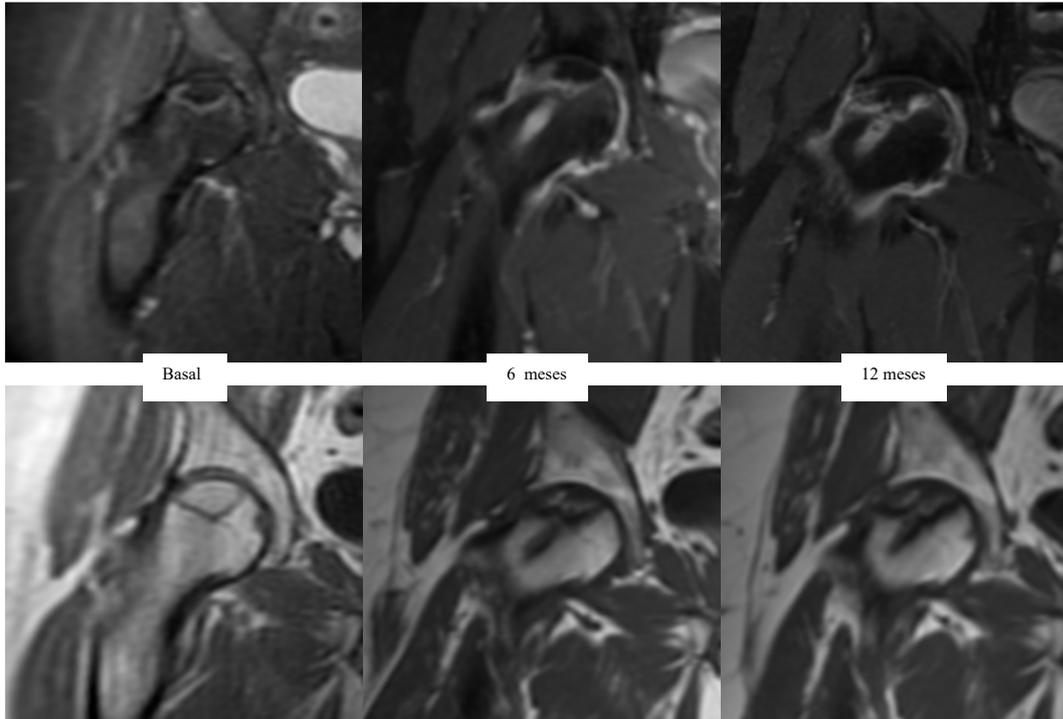
**Figura 14. Secuencia de imágenes de RM en el paciente 02. Afectación de un 25% de la cabeza femoral izquierda (grado II-B de ARCO). La cabeza femoral conserva la morfología esférica normal, sin signos de colapso, y el espacio articular se conserva durante el seguimiento.**



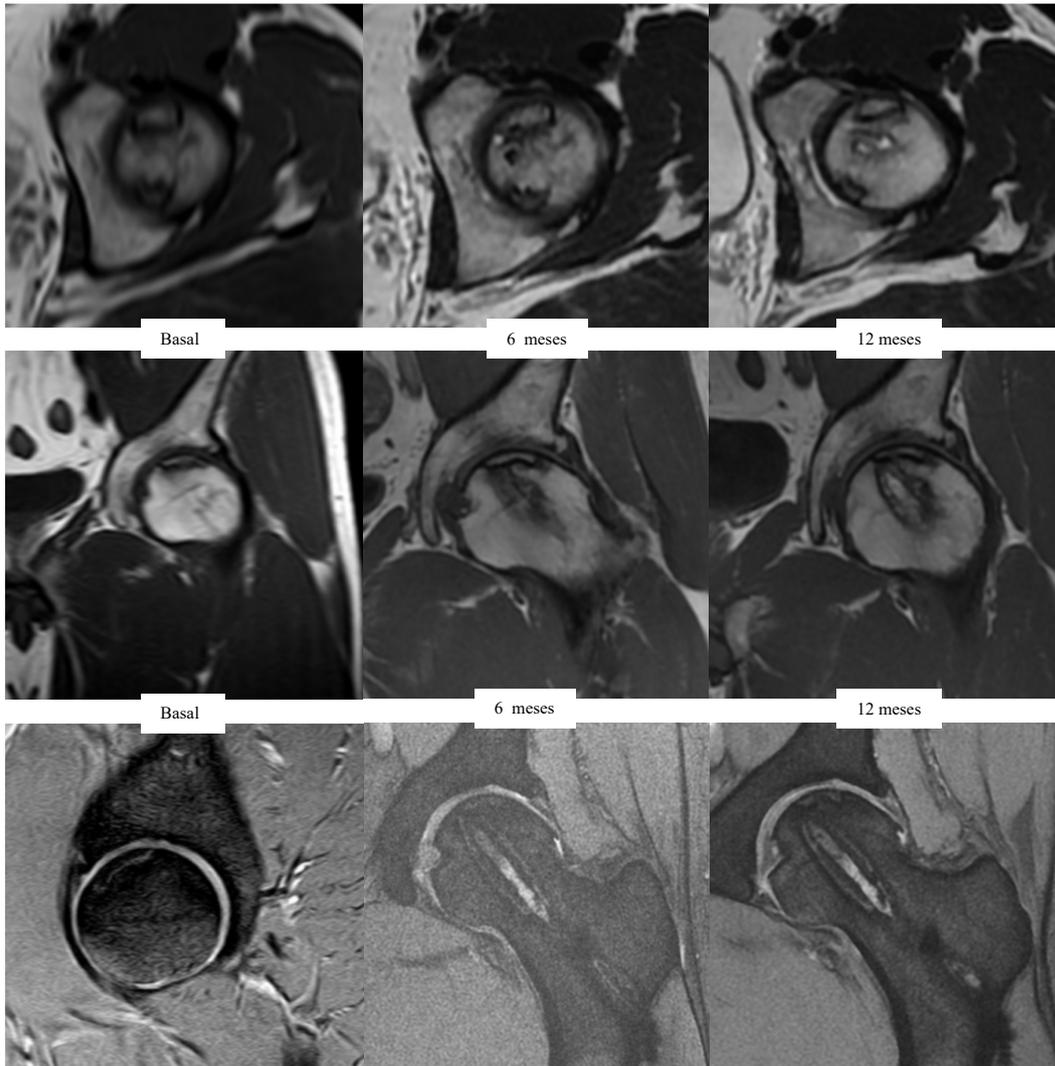
**Figura 15.** *Secuencia de imágenes de RM en el paciente 03. Área de osteonecrosis epifisaria anterosuperior de aproximadamente un 25% del volumen total de la cabeza femoral (grado II-B de ARCO). Se objetiva captación de contraste en el hueso esponjoso de parte de la zona osteonecrótica, en los bordes de la lesión y en el borde del trayecto de la fenestración.*



**Figura 16.** *Secuencia de imágenes de RM en el paciente 04. Alteración de la intensidad de la señal en la medula ósea de la epífisis femoral proximal anterosuperior y medial que ocupa aproximadamente 1/3 de la cabeza femoral izquierda (grado II-B de ARCO). Se observan áreas de captación de contraste a los 6 meses, más difusas a los 12 meses, lo que puede ser interpretado como signos de revascularización parcial.*



**Figura 17.** *Secuencia de imágenes de RM en el paciente 06. Alteración de la señal de la cadera derecha, fragmento de aproximadamente 20% del volumen de la cabeza, de localización anterosuperior (grado II-B de ARCO). No existe captación de contraste que sugiera revascularización del fragmento, pero sí existe realce en la periferia y estabilización de las lesiones y cambios.*



**Figura 18.** *Secuencia de imágenes de RM en el paciente 08. Hallazgos sugerentes de osteonecrosis en aproximadamente un 15% de la región anterosuperior y lateral femoral (grado II-A ARCO). Se aprecia la estabilización del cuadro posterior a la DN e infusión de CSM.*

## 5.4 Situación clínica y exploración física

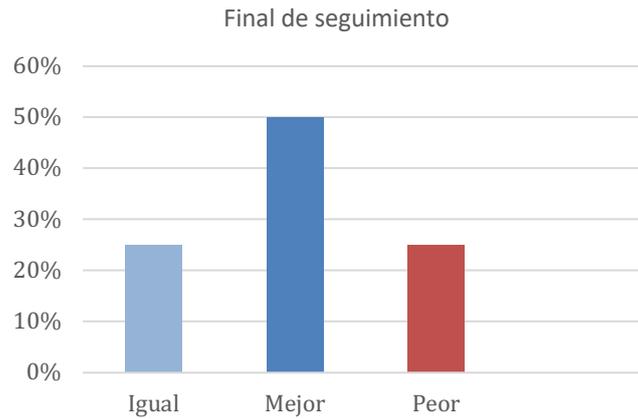
Es llamativa la mejoría clínica encontrada en estos pacientes a lo largo del seguimiento post-infusional, especialmente en cuanto a la funcionalidad y a la disminución de dolor y molestias (Tabla 30 y Figura 18).

Ya desde el 1º mes tras la cirugía existe una mejoría de la sintomatología en todos los sujetos excepto en uno, que refiere mantenerse igual. Al 3º mes el 100% refiere haber presentado una mejora sustancial. Respecto al 6º mes, y como se viene indicando en la evolución del resto de parámetros, parece ser el mes de inflexión a positivo o negativo del cuadro. En este caso, predomina una evolución favorable en los pacientes. Así, 5 (65,5%) presentan mejoría clínica, 2 (25%) no encuentran ningún cambio, y tan solo un paciente (12,5%) empeora respecto a la visita previa. Al año y fin de seguimiento, 4 pacientes (50%) aumentan aún más la sensación de alivio sintomático, 2 (25%) se estabilizan respecto a la visita anterior, y otros 2 (25% restante), son los que definitivamente no encuentran una mejoría con el proceso de tratamiento.

De forma global y analizando el estado general percibido por el paciente durante las consultas, se aprecia una mejoría clínica con el tratamiento en el 75% de los pacientes.

**Tabla 30. Cambios clínicos.**

	1º mes	3º mes	6º mes	12º mes
Igual	1 (12,5%)	0 (0%)	2 (25%)	2 (25%)
Mejor	7 (87,5%)	8 (100%)	5 (62,5%)	4 (50%)
Peor	0 (0%)	0 (0%)	1 (12,5%)	2 (25%)
Total	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)



**Figura 19. Cambios clínicos de los pacientes al final del seguimiento.**  
*Obsérvese en azul los pacientes que se mantuvieron estables y mejoraron, y en rojo los que empeoraron.*

Otro parámetro importante en la evaluación clínica es la movilidad de la cadera afectada y sus posibles limitaciones mecánicas por la osteonecrosis. Es evidenciable una mejoría media en los grados medidos en cada uno de los movimientos a lo largo del año de seguimiento.

Partiendo de un rango de 140° de flexión como valor medio normal, observamos una ganancia de entre 8 y 10° según media y mediana al año de seguimiento. Con 124,37° de media basal, la evolución es paradójica, observando en el primer mes post-intervención un aumento de más de 5°, que en el 3° mes vuelve a caer a los valores iniciales, en posible relación con el mínimo valor de flexión de un paciente. Al medio año, vuelve a aumentar, con 127,5° (intervalo de confianza del 95%, 117,88-137,12), y finalmente se establece al año en 124,37° (intervalo de confianza del 95%, 113,01-135,73) (Tabla 31).

**Tabla 31. Balance articular. Grados de flexión.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	116,875	120	4,219	100	135
1º mes	122,5	122,5	4,629	100	140
3º mes	116,875	130	10,476	50	140
6º mes	127,5	130	4,909	100	140
12º mes	124,375	130	5,781	100	140

Los valores de abducción y adducción normales son de aproximadamente 40°. Partíamos de unos valores medios de 26,25° (intervalo de confianza del 95%, 22,67-29,83) y 28,12° (intervalo de confianza del 95%, 24,95-31,29) respectivamente, obteniendo una mejoría al año de 9° y 5° respectivamente, es decir, 35° (intervalo de confianza del 95%, 31,8-38,2) y 33,75° (intervalo de confianza del 95%, 29,72-37,78). En este caso, la evolución es continuamente favorable en cada visita de seguimiento (Tablas 32 y 33).

**Tabla 32. Balance articular. Grados de abducción.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	26,25	25	1,829	20	35
1º mes	28,75	30	2,059	20	40
3º mes	28,75	30	2,059	20	35
6º mes	33,125	32,5	1,874	25	40
12º mes	35	35	1,636	30	40

**Tabla 33. Balance articular. Grados de adducción.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	28,125	30	1,619	20	35
1º mes	28,125	30	2,099	15	35
3º mes	29,375	30	1,475	20	35
6º mes	33,125	32,5	2,302	25	40
12º mes	33,75	32,5	2,059	25	40

Las rotaciones, tanto interna como externa, también tienen unos valores relativos de normalidad de 40°, objetivando una disminución de 15° de media en la situación inicial para ambos, es decir 25°, y presentando una ganancia en la movilidad media y mediana de más de 9° para la rotación externa y de 8° para la interna, en la última visita (Tablas 34 y 35).

**Tabla 34. Balance articular. Grados de rotación externa.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	25	25	2,834	15	35
1º mes	27,25	27,5	2,127	20	38
3º mes	26,875	30	2,302	15	35
6º mes	32,5	32,5	1,636	25	40
12º mes	34,375	35	1,475	30	40

**Tabla 35. Balance articular. Grados de rotación interna.**

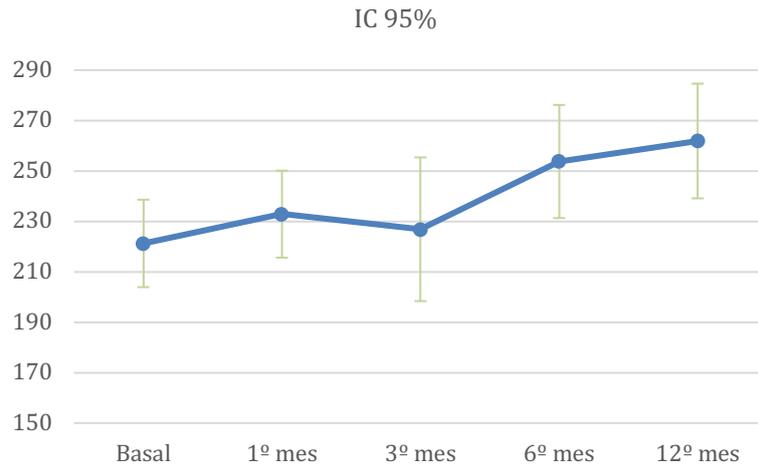
	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	25	27,5	2,988	10	35
1º mes	26,25	27,5	2,265	15	35
3º mes	26,25	27,5	2,630	15	35
6º mes	27,5	27,5	2,834	15	40
12º mes	33,125	32,5	2,302	25	40

Podemos apreciar, ya en términos totales, un aumento en más de 40° grados de media comparando la situación basal y al año tras la cirugía de perforación e infiltración de células pluripotenciales (Tabla 36 y Figura 19).

**Tabla 36. Balance articular. Total grados de movilidad.**

	Media	Mediana	Error estándar de la media	Mínimo	Máximo
Basal	221,25	215	8,851	190	275
1º mes	232,875	230	8,806	205	283
3º mes	226,875	230	14,544	150	275
6º mes	253,75	250	11,446	215	300
12º mes	261,875	265	11,608	215	300

## Resultados



**Figura 20. Evolución en la ganancia media de grados de movilidad total.**

A lo largo todo el ensayo se prestó enorme atención a la posibilidad de reacciones adversas o complicaciones propias a la administración de las células madre junto con su solución, así como a la realización de la descompresión del núcleo de la cabeza femoral. Era objetivo primordial del presente estudio valorar la seguridad del proceso durante todo el seguimiento post-infusional de los pacientes.

No existió ninguna reacción o complicación relacionada con el producto celular o cirugía de infusión durante el año de seguimiento (Tabla 37).

**Tabla 37. Aparición de complicaciones.**

	1º mes	3º mes	6º mes	12º mes
No	8 (100%)	7 (87,5%)	7 (87,5%)	6 (75%)
Sí, sin relación con el proceso	0 (0%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	2 (25%)
Sí, en relación con el proceso	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Total	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)

## 5.5 Necesidad de ATC

Sabiendo que, tras el diagnóstico inicial de ONCF la progresión es rápida y la evolución a una artroplastia de cadera en muchos casos se hace inminente, otro objetivo importante del estudio era determinar qué porcentaje de los pacientes expuestos a tratamiento acababa precisando indicación de cirugía protésica durante el año de seguimiento. En este caso se observó que 2 pacientes, es decir, el 25% de la muestra, y coincidiendo con aquellos que en los resultados clínicos no alcanzaron una clara ganancia, requirieron de una prótesis total de cadera, mientras que los restantes 6 sí consiguieron una estabilización o mejoría del cuadro suficiente para evitar la necesidad de artroplastia (Tabla 38).

**Tabla 38. Artroplastia final.**

	Frecuencia	Porcentaje
No	6	75
Sí	2	25
Total	8	100



**Figura 21. Corte coronal de la cabeza femoral de uno de los pacientes que precisó una ATC. Obsérvese el trayecto de la DN y las geodas subcondrales.**



## **DISCUSIÓN**



## 6. Discusión

Sabemos que la osteonecrosis idiopática de la cabeza femoral es una enfermedad progresiva, debida a distintos mecanismos fisiopatológicos no del todo bien comprendidos como son el taponamiento extra o intravascular por contenido graso, microembolismos o una coagulación intravascular, que conllevan la disminución o interrupción del flujo sanguíneo, lo que en fases avanzadas acaba destruyendo por completo la articulación de la cadera si se deja sin tratamiento. Afecta principalmente a la población masculina en edad media, entre los 40 y 50 años aproximadamente, ocasionando una repercusión socio-laboral considerable.

En fases iniciales el objetivo del tratamiento es detener, o en su defecto enlentecer, la progresión hacia un colapso óseo de la cabeza femoral; mientras que en estadios avanzados la ATC es la única opción disponible con resultados comprobados. Por todo ello, es llamativo cómo una enfermedad que puede llegar a suponer en torno al 10% de las indicaciones para una prótesis total de cadera, y en la que parece estar habiendo un ligero aumento de su incidencia en los últimos años, no conseguimos hallar un tratamiento suficientemente eficaz que permita detener su progresión incluso en aquellos casos en los que se consigue diagnosticar, a pesar de la dificultad, en estadios tempranos.

Bajo esta premisa, sumada a los resultados inconsistentes que hemos observado en nuestra práctica clínica con la sola DN, respaldados por estudios publicados por diferentes autores, que demuestran que la eliminación y descompresión de la zona necrótica no es suficiente desde el punto de vista fisiopatológico para estabilizar o regenerar este cuadro, surge la idea y fin de este proyecto de tesis: combinar el tratamiento clásico de DN con los nuevos avances que se están dando en el ámbito de la terapia celular con células mesenquimales.

Así pues, estas CSM han sido obtenidas de la cresta ilíaca posterior de los pacientes mediante sedación, aproximadamente cuatro semanas antes de la administración celular. Primero se realiza su aislamiento y expansión, utilizando como suplemento del medio de cultivo lisado plaquetario, y a continuación los distintos pases de cultivo, hasta asegurar que cada paciente reciba una dosis de  $0,5-1,0 \times 10^6$  células/Kg de peso.

De esta forma, por este proceso obtenemos verdaderas células mesenquimales libres de contaminación con células proinflamatorias o con otros tipos celulares presentes en médula ósea o en lipoaspirados, lo que supone una ventaja de nuestro método y nos diferencia de otros estudios donde la muestra es recolectada sin un proceso de aislamiento o cultivo, o donde el número de células implantadas es indeterminado. Por ejemplo, son numerosas las investigaciones presentadas en las que el producto instilado son concentrados obtenidos de cresta ilíaca pero sin procesar, es decir, no han seguido un proceso de cultivo ni aislamiento que permita un aumento del número de células mononucleares, suponiendo una muestra con una cantidad de células osteoprogenitoras muy disminuida<sup>201</sup>. Existen igualmente estudios donde lo que se infiltra es concentrado de plasma rico en plaquetas (PRP), y en los que a pesar de observar un proceso de reparación mediante la agregación de macrófagos y formación de tejido fibroso, debido a la inespecificidad del producto, no es posible discriminar la regeneración de tejido óseo<sup>202, 203</sup>.

Por tanto, sabemos que las CSM adultas que obtenemos para infundir en la cabeza femoral son factorías de producción celular multilínea por su característica de indiferenciación, capaces de autorrenovarse merced a su alta capacidad proliferativa, su potencial de diferenciación mesodérmica y la capacidad para producir un gran número de biofactores con capacidad para inducir procesos moleculares que conllevan mecanismos de regeneración del tejido óseo femoral. Las CSM secretan una serie de factores como son las quimiocinas o factores de crecimiento, entre otros, que actuando de manera paracrina, promueven dichos procesos reparativos. Mecanismos conocidos de actuación son la modulación de componentes inflamatorios, la promoción de la formación de matrices de granulación vascularizadas, la estimulación de la migración celular o la inhibición de la apoptosis de determinadas células. Pero entendemos que la pieza esencial de los procesos de regeneración parte de su capacidad de inmunomodulación<sup>204</sup>.

Estudios pioneros en este ámbito y afines a nuestros resultados clínicos son los llevados a cabo por autores como *Hernigou*<sup>205, 206</sup>, que comienza con la introducción de autoinjerto de aspirado de médula ósea a través de la tunelización femoral en 1997, siendo de esta manera, el primer reporte del uso de una terapia celular como tratamiento. En 2002<sup>198</sup> presenta un estudio con un alto número de pacientes en estadios iniciales, fases I y II, con un seguimiento de hasta 10 años, tratados mediante DN y posterior aporte de aspirado medular de la cresta del propio paciente, reportando mejor evolución clínica que muchos

pacientes tratados conservadoramente. Del mismo modo, *Gangji* en 2003 también refuerza esta idea y evalúa *ex vivo* el grado de proliferación y diferenciación de los osteoblastos obtenidos de la zona intertrocanterica del fémur proximal y cresta ilíaca de pacientes con ONCF y de pacientes con coxartrosis, observando una marcada disminución de la capacidad replicativa de estas células en los pacientes con ONCF. Se demuestra por tanto, que el pool de células progenitoras óseas es muy bajo en esta enfermedad como para poder reemplazar el tejido muerto con una simple descompresión. En este sentido es necesario tener presente que los aspirados de MO no son una terapia celular como tal, ya que no conocemos los tipos celulares que contienen ni su cantidad exacta. Lo mismo ocurre si se emplea lo que denominamos como plasma rico en plaquetas. Por tanto, estos trabajos aunque de alguna manera son precursores, no pueden considerarse como terapia celular en sentido estricto.

Respecto al lugar de obtención de las CSM, sabemos que existen distintas fuentes. La primera que se describió fue de médula ósea (CSM-MO) y todavía hoy sigue siendo la fuente celular más empleada. Aun así, existen otras fuentes cada vez más utilizadas e investigadas, como son el tejido adiposo (CSM-TA), la gelatina de Wharton de cordón umbilical de recién nacidos (CSM-CU), o la placenta, entre otras. Todas cumplen los criterios de la ISCT.

Según diversos estudios que analizan posibles diferencias entre estas tres fuentes<sup>207</sup>, todas las células obtenidas presentan características típicas, como son la morfología fibroblastoide, el patrón inmunofenotípico común, la formación de CFU-F y la capacidad de diferenciación multipotencial a líneas osteogénica, adipogénica y condrogénica. Sí se aprecian diferencias significativas en cuanto al grado de expresión de distintos marcadores, como son CD90, CD105 y CD106, moléculas asociadas con la hematopoyesis y migración celular, y no del todo comprendidas<sup>208, 209</sup>.

CSM-MO y CSM-TA son fuentes fiables para aislar y expandir CSM en un escenario autólogo, mientras que las CSM-CU se ha estudiado que tienen un índice de aislamiento en torno al 63%, lo que supone un gran inconveniente *a priori*. Estas diferencias pueden ser atribuibles al hecho de que las CSM están circulando por el organismo prenatal mientras que en el tejido adulto están ya asentadas<sup>210</sup>. A pesar de esto, el potencial de expansión es mayor en las CSM-CU, pueden ser cultivadas durante mayor tiempo y muestran mayor capacidad de proliferación, así como un envejecimiento más lento y

mayor efecto antiinflamatorio, mediante un aumento en la secreción de *Ang-I*<sup>211</sup>. Además, su método de obtención es no invasivo, y no presenta problemas éticos, circunstancias trascendentes en determinados contextos.

Otra diferencia interesante la marca el grado y capacidad de diferenciación. CSM-MO y CSM-TA poseen una diferenciación multilineal clara, mientras que las CSM-CU parecen no poder diferenciarse en un linaje adiposo o cuanto menos, son poco sensibles para esta diferenciación. Según *Chang et al*<sup>212</sup>, esto es debido a la propia ontogenia de estas células, es decir, a la existencia de adipocitos en la médula ósea y tejido graso adulto y a su ausencia en sangre fetal; así como por el incremento de la adipogénesis que se da con la edad. Conforme a todo esto, parece ser más fiel la diferenciación tri-potencial (adipo-, condro- y osteogénica) en las CSM-MO y CSM-TA, siendo la expresión en esta última aún más constante<sup>157</sup>, y con la ventaja añadida de ser obtenidas de una forma menos invasiva y en mayores cantidades que las CSM-MO<sup>213</sup>.

En nuestro estudio, a pesar de conocer las distintas fuentes de producción de este tipo celular, nos decantamos por la obtención de cresta ilíaca por su accesibilidad y nuestra experiencia en la realización de dicho proceso en nuestros Servicios, así como por la fiabilidad de obtención, rapidez de proliferación y viabilidad de las CSM obtenidas de esta fuente, que como se ha dicho, es la más consolidada. A pesar de ello, las principales trabas de las CSM-MO son que precisa de un método invasivo y con ciertas molestias para el paciente con su obtención y que el número, frecuencia y capacidad de diferenciación se correlaciona negativamente con la edad, por lo que es un factor a tener en cuenta en su obtención en pacientes de edad avanzada.

Parte fundamental de esta tesis, y de la terapia celular en general, es valorar la eficacia y seguridad del proceso, al tratarse de un ensayo clínico en fases iniciales.

Las CSM, al igual que las células madre en general, tienen características similares a las células cancerígenas, como pueden ser una larga vida media, la resistencia a la apoptosis o la capacidad de replicación durante largos periodos de tiempo. Además, ciertos factores de crecimiento y mecanismos de control están presentes en el mantenimiento tanto de células cancerígenas como de CSM. Por ello, desde los primeros ensayos de terapia celular con CSM y con otros tipos celulares se ha planteado siempre el potencial riesgo de malignización una vez implantadas. Sin embargo, la evidencia generada en los ensayos

publicados con miles de pacientes tratados ha mostrado la seguridad de estos tratamientos en este aspecto, al menos con 10-15 años de seguimiento. Otras posibles reacciones que limitan su uso son la posible reacción alo-inmune, que es un problema menor en las CSM por no expresar moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad en condiciones basales<sup>214</sup>.

Es primordial por tanto, que al evaluar una nueva terapia celular en seres humanos, el número de participantes y la dosis administrada no sean especialmente altos ante posibles reacciones adversas. Aunque el tratamiento se haya probado en el laboratorio y en estudios en animales, no siempre se pueden predecir los efectos secundarios en seres humanos. De esta manera, determinar la cantidad total del producto de tratamiento que podía darse de forma segura sin causar efectos secundarios graves era un objetivo del presente ensayo.

A lo largo de nuestro estudio, durante la expansión *in vitro* celular no se produjo ningún tipo de alteración cromosómica, una comprobación que por los motivos expuestos en el párrafo anterior es imprescindible para la validación del producto celular terapéutico. Igualmente, no se produjo ningún tipo de complicación durante la extracción celular, cirugía de DN e infusión o seguimiento postoperatorio, relacionada con el proceso. Tampoco hubo reacción o efecto adverso al producto celular. Revisando la bibliografía existente, parece coincidir con nuestra investigación, no encontrándose en la mayoría complicaciones significativas. Pocos son los estudios donde los pacientes sí presentaron algún tipo de reacción, como vértigo, dolor de cabeza, fiebre o enrojecimiento, y además en general, se estaba administrando algún tipo de tratamiento concomitante a las CSM, como vasodilatadores o fosfato tricálcico, o se suplementó con injertos vascularizados<sup>215</sup>.

Por todo ello, un aspecto importante durante todo el proceso es la supervisión y monitorización con la frecuencia adecuada. Al igual que con cada paciente en estudio se hace un seguimiento evolutivo constante para el control e identificación a tiempo de posibles reacciones, con la terapia celular, que requiere una expansión y aislamiento celular, también es preciso un control para asegurar que las células mantienen su fenotipo completo y su potencial de función, así como que el producto celular cultivado no haya sufrido transformación ni contaminación microbiológica<sup>214</sup>.

Asimismo, otra ventaja de nuestro estudio pasa en un primer momento por tratarse de un ensayo clínico en fases iniciales (fase II), que nos ha permitido comprobar la eficacia y seguridad de la implantación de CSM en seres humanos en nuestro ámbito.

Para la valoración de nuestros resultados clínicos, nos basamos principalmente en tres factores globales: la sintomatología del paciente y su evolución a lo largo del seguimiento, los cambios resultantes en las pruebas de imagen y la necesidad de realizar una ATC definitiva.

En cuanto a la situación clínica es llamativo que todos los sujetos en el primer mes post-proceso mejoraron del dolor excepto uno, y en torno al tercer mes la totalidad de los pacientes referían encontrarse mejor de su dolencia. Este hecho puede venir explicado por la disminución de la hipertensión intraósea que se produce tras la perforación de la lesión y consiguiente reducción del edema, así como por el efecto antiinflamatorio que producen las propias CSM. Al año y fin del seguimiento, la mitad (50%) referían encontrarse mejor clínicamente respecto a la situación pre-intervención quirúrgica y sentirse satisfechos con el proceso, 2 pacientes (25%) parecían hallarse estabilizados, de forma similar al estado previo y 2 (25%) encontraron empeoramiento a pesar del alivio sintomático inicial. Así pues, son resultados similares a los que podemos encontrar en los estudios de *Gangji* o *Hernigou*<sup>198, 217</sup>.

Según los índices medios, se consiguió un aumento de los grados de movilidad en todos los rangos articulares de la cadera, tanto en flexión, abducción y adducción como rotación interna y externa. Por lo que se puede decir que de forma global se produjo una ganancia en el total de grados de movilidad de las caderas afectas.

El estudio de los cuestionarios también arroja datos concordantes con los clínicos. La EVA, que partía de un valor medio de 7,94 (intervalo de confianza del 95%, 6,93-8,95), bajó a un valor medio de 5,06 (intervalo de confianza del 95%, 2,75-7,37) al año de seguimiento.

En el cuestionario Harris, en el apartado *Dolor* se cuantificó una mejora media que osciló de 16,25 (intervalo de confianza del 95%, 7,85-24,64) a 24,62 (intervalo de confianza del 95%, 13,97-35,27) y el apartado *Función* varió de 17,62 (intervalo de confianza del 95%, 11,38-23,86) a 22,25 (intervalo de confianza del 95%, 15,18-29,31), igualmente. Los

valores totales del *HHS* pasaron de 52 (intervalo de confianza del 95%, 39,54-64,46) a 67 (intervalo de confianza del 95%, 47,92-86,08).

Respecto a la escala de valoración de salud y calidad de vida, el SF-36, los valores globales de salud física mejoraron de una media de 25,93 (intervalo de confianza del 95%, 16,37-35,49) a 44,60 (intervalo de confianza del 95%, 23,48-65,72) y los de salud mental, de 49,92 (intervalo de confianza del 95%, 26,42-73,42) a 61,06 (intervalo de confianza del 95%, 36,76-85,36).

En casi todos los estudios revisados la mejora de la sintomatología clínica y funcionalidad de la cadera es una constante, aunque los valores son notablemente mayores a los obtenidos en este estudio<sup>198, 199</sup>. *Sen et al*<sup>218</sup> por ejemplo, arrojan una cifra superior a los 76 puntos en el *HHS* a los 12 meses. También notamos diferencias en este aspecto con respecto a un último trabajo publicado por *Wu et al.* en 2020<sup>219</sup>, donde presentan una media de 84,66 en el *HHS* y una EVA de 1,91 tras 9 meses del tratamiento.

En cuanto a las series radiográficas, con proyecciones AP y axial, no es hasta el 6º mes de evolución cuando empiezan a apreciarse los cambios radiológicos, manteniéndose desde entonces constantes hasta el final del seguimiento. Así pues, parece producirse una estabilización y un no progreso del cuadro en la mayoría de pacientes (62,5%); encontramos uno (12,5%) en el que puede intuirse cierta evolución favorable del cuadro, estipulada por una reducción de la porosidad o disminución de la zona lesionada; y por el contrario, dos pacientes (25%) en los que sí se produce un avance del cuadro o del grado de afectación.

La RM se realizaba tras la basal, al 6º y 12º mes post-infusión, con vistas a ofrecer un cierto tiempo para obtener algún tipo de cambio o resultado, y que gracias a la sensibilidad de la prueba nos pudiera describir más específicamente el estado óseo femoral. De esta manera, y en función de la clasificación ARCO, partíamos de 2 (25%) caderas en estadio 1A (signos de necrosis ósea coincidiendo con zonas de carga de peso en una zona menor del 15%), 2 (25%) en 2A (se aprecian cambios escleróticos y poróticos en una zona focal menor del 15%), y 4 (50%) en 2B (similar con una afectación aproximada de entre 15 y 30%). Tanto en la prueba del 6º como del 12º mes los resultados fueron muy similares, hubo variación en un único paciente (12,5%) que con un grado 2B pasó a 3A, es decir evolucionó al colapso subcondral de la cabeza femoral, donde el llamado signo de la

media luna ya era apreciable. El resto de caderas mantuvieron durante el año de seguimiento la misma clasificación que la basal, es decir, permanecieron estables radiológicamente en el 87,5%, lo cual parece mejorar respecto a la historia natural de la ONCF sin tratamiento, con índices muy variables de evolución al colapso en los años siguientes, de entre un 19 y un 90%<sup>220</sup>. En algún caso llega incluso a apreciarse una disminución del edema y aumento del realce y captación de contraste, signos de mejora radiológica, aunque no suficientes como para reducir el estadio en la clasificación.

Asimismo, los estudios al respecto también se caracterizan por la mejoría y estabilización del cuadro en la RM, aunque observamos unos valores más favorables<sup>221, 222</sup>. Por ejemplo, en el trabajo de *Tabatabaee et al.*<sup>223</sup>, donde de los 14 pacientes tratados con DN y CSM, 2 pasaron de un estadio III a II, y 1 paciente de II a I de ARCO tras 24 meses de seguimiento, manteniéndose el resto en el mismo estadio. *Kang et al.*<sup>224</sup>, con un periodo de seguimiento aproximado de 4 años, estima en un 38% (19 caderas) la progresión en grados ARCO a pesar de recibir este tratamiento.

Sabemos que la evolución y progreso de la enfermedad es dependiente de ciertos parámetros como son el tamaño de la lesión, localización, grado de clasificación, tiempo transcurrido hasta el diagnóstico y ciertos factores etiológicos no del todo conocidos. Pero parece ser que el tamaño de la lesión necrótica es el factor predictivo más importante<sup>225, 226</sup>. *Hernigou* estima un colapso del 80% de las cabezas femorales con una afectación necrótica de entre el 10-20%, y un 50% en aquellas con una afectación menor del 10%<sup>226</sup>. En nuestra muestra, 50% presenta una afectación menor del 15%, y el otro 50% entre el 15 y 30%, una de los cuales fue la que progresó a colapso en el ensayo.

En relación a la necesidad de protetizar la cadera tras el año de seguimiento, parámetro muy utilizado en diversos estudios como patrón final de éxito o fracaso, obtuvimos un número coincidente con los pacientes que presentaron una evolución tórpida y un progreso radiológico de la necrosis. El 25%, es decir, 2 de los 8 pacientes incluidos en el estudio, precisaron de cirugía protésica al final del seguimiento. Esto supone un valor superior al que arrojan otros estudios clásicos. *Hernigou* por ejemplo, estima en un 8% la necesidad de artroplastia en pacientes afectos en un grado II y además, en un tiempo de seguimiento mayor<sup>198</sup>. *Gangji et al.*<sup>225</sup> arroja también un bajo número de artroplastias, con 2 de 18 pacientes tratados con un seguimiento de 24 meses. *Nally et al.*<sup>227</sup> en cambio,

sí aprecia un índice de conversión a ATC más elevado que otros autores, con una tasa del 50% (8 de 16 pacientes tratadas), solo que el período de seguimiento es mayor, 53 meses.

Las principales limitaciones de nuestro estudio las encontramos a la hora de valorar y analizar el efecto de las CSM en una serie tan corta de pacientes, dadas las características de este ensayo clínico.

Una primera pregunta que nos puede asaltar al analizar resultados favorables es hasta qué punto es la DN o las CSM el causante mayoritario de esa mejoría clínica o radiológica. En este trabajo solo se valoran y analizan pacientes tratados mediante DN y adición de CSM. Sería imposible valorar de forma exacta el patrón de comportamiento de una misma cadera afecta, tratada mediante DN y DN más CSM. Lo más similar sería tener 2 grupos en los que se llevase a cabo un tratamiento distinto y luego comparar los resultados, aun sabiendo que nunca llegará a ser totalmente objetivo por la heterogeneidad propia de la enfermedad (etiología, estadiaje, área de afectación...) y del paciente. En este sentido existen numerosos estudios donde hay 2 grupos de tratamiento. *Gangji et al.* en 2004<sup>199</sup>, realiza el primer estudio prospectivo doble-ciego con 19 pacientes y 24 caderas afectas en estadios iniciales de ONCF, comparando pacientes tratados mediante DN e infusión de médula ósea autóloga, y DN como único procedimiento; observando tras 24 meses de seguimiento cómo la clínica y la evolución a fase de colapso era bastante menor en la muestra tratada además con aspirado medular. En 2011<sup>225</sup>, y como continuación del estudio anterior, publica el seguimiento de los mismos pacientes tras 60 meses de evolución viendo que 8 de las 11 caderas tratadas mediante DN habían evolucionado a colapso, mientras que en el grupo de DN + CSM esto solo ocurrió en 3 de las 13 caderas tratadas. Igualmente se apreció una marcada disminución del dolor y de los síntomas articulares en este grupo. Más recientemente, en 2018, *Kang et al.*<sup>224</sup> hace la misma comparación en 100 caderas con un seguimiento promedio de 4 años. Los resultados toman la misma dirección, el índice de conversión a ATC era del 49% en las DN y de 28,3% en las DN+CSM, y un progreso a colapso del 50% de las DN comparado con el 20% de las DN+CSM. *Hernigou et al.*<sup>228</sup>, también en 2018, presenta un trabajo original con 125 pacientes con ONCF bilateral, en iguales estadios iniciales, tratando una mediante DN y la contralateral con DN y CSM. Presenta un seguimiento entre 20 y 30 años. Arroja datos tales como un 28% de colapso en el grupo de las CSM frente al 72% del grupo de DN únicamente, o un 24% de las CSM acabaron en ATC frente al 76% de las DN.

Otra cuestión relevante que queda en este campo sería conocer el o los mecanismos últimos del efecto de estas células sobre el área de osteonecrosis. Su efectividad puede estar relacionada con la presencia de factores osteogénicos y angiogénicos, que produzcan mediante efecto paracrino, un aumento de la angiogénesis y osteogénesis creando una actividad reparadora suficiente para hacer la lesión reversible, junto al efecto anti-inflamatorio e inmunomodulador.

Así mismo, se sabe que la eficacia del proceso puede estar íntimamente ligada al número de células que se implantan, pero el número de células que se necesitan para estabilizar o mejorar un área necrótica se desconoce<sup>198, 225, 228</sup>. Ésta es una de las grandes limitaciones a la hora de analizar la literatura. Existe gran variabilidad con respecto a la terapia celular empleada, el tipo celular y su manera de obtención, aislamiento y expansión, su manejo tanto cualitativo como cuantitativo, o el método de implantación. De esta manera, obtener conclusiones comparativas entre los diversos estudios para la evaluación de resultados y la eficacia relativa entre distintas estrategias de terapia celular deben hacerse, *a priori*, con cautela<sup>229</sup>. Sería preciso en un futuro lograr una estandarización de la caracterización de la terapia celular. Sin embargo, también es cierto que a pesar de que la administración de un mayor número de CSM podría resultar más favorable y que se desconoce un umbral máximo de concentración, su efecto también depende de su capacidad proliferativa y de diferenciación de manera efectiva en osteoblastos y osteocitos, especialmente en un microambiente isquémico y anóxico como es la zona necrótica de la cabeza femoral.

En nuestro estudio cada paciente recibió una cantidad aproximada de CSM de entre 0,5-1,0x10<sup>6</sup>/Kg en todos los casos, lo cual parece haber resultado una dosis suficiente basándonos en las posibles necesidades biológicas para la osteogénesis en este tipo de pacientes. Así pues, según recientes estudios y excepto para los pacientes infiltrados con aproximadamente 24-25x10<sup>3</sup> células en los trabajos iniciales de *Hernigou et al.*<sup>198, 221</sup>, el número de CSM habitualmente utilizadas oscila entre 10<sup>6</sup> y 10<sup>9</sup>, siendo lo más frecuente 10<sup>8</sup> células<sup>201, 230, 231</sup>. De esta manera y según la bibliografía reciente, a pesar de no conocer el número óptimo de CSM necesarias, una cantidad de entre 10<sup>6</sup> y 10<sup>9</sup> parecería razonable<sup>214</sup>.

Otra limitación apreciada es no haber podido contar, durante el periodo de inclusión, con un mayor número de pacientes que cumpliesen todos los criterios exigidos; así como haber realizado un periodo de seguimiento y evolución de un año, pero que nos deja la

puerta abierta a continuar dicho estudio y poder valorar el progreso de los pacientes tratados durante espacios de tiempo más prolongados. Al tratarse de un proyecto financiado con fondos públicos del ISCIII y sobre un proyecto concreto, no resulta posible su modificación si no se obtienen fondos adicionales.

Tal y como hemos visto, todos nuestros hallazgos nos dan pie a seguir nuestras investigaciones en este campo. No se han observado efectos secundarios y el procedimiento ha sido factible en todos los casos. Con los datos preliminares obtenidos, la mejoría clínica así como la estabilización radiológica mayoritaria del cuadro apreciada durante el tiempo de seguimiento, supone una base clínica para evaluar en ensayos con un mayor número de pacientes y de forma aleatorizada frente al procedimiento de DN sin células, la eficacia de esta estrategia terapéutica novedosa para las fases iniciales de la ONCF.



## **CONCLUSIONES**



## 7. Conclusiones

### 7.1 General

- **Respecto a la eficacia de la terapia celular con células mesenquimales autólogas en el tratamiento de pacientes afectos de osteonecrosis femoral idiopática en estadios precoces mediante la realización de un ensayo clínico fase II, prospectivo, abierto, de una única rama de tratamiento:**

Nuestros resultados muestran que la terapia celular con células mesenquimales a través de la descompresión del núcleo femoral, es un procedimiento factible, seguro, y potencialmente útil en el tratamiento de la osteonecrosis de la cabeza femoral.

### 7.2 Específicas

- **Respecto a la verificación de la seguridad de la implantación local de células mesenquimales autólogas expandidas *in vitro* en suspensión en el tratamiento de estos pacientes:**

Podemos afirmar que la administración de una suspensión de células mesenquimales autólogas no produjo ningún tipo de reacción adversa o complicación secundaria en los pacientes tratados, pudiendo considerar el proceso como seguro.

- **Respecto al análisis de la factibilidad del proceso y la posibilidad de desarrollo:**

Ha mostrado ser un proceso que puede ser llevado a cabo sin complicaciones y de forma similar en todos los pacientes, resultando ser factible, viable y reproducible.

- **Respecto a los resultados clínicos, comparando mediante cuestionarios y escalas de dolor, función, calidad de vida y estatus laboral el estado previo al tratamiento y los sucesivos a lo largo del seguimiento:**

Nuestros resultados muestran una mejoría de la situación clínica de la mayoría de los pacientes tratados, tanto por la disminución de la sintomatología, como por el aumento de la puntuación en los diversos cuestionarios relacionados con la salud y estado físico, objetivo y subjetivo, de cada paciente.

- **Respecto a los resultados de la radiología simple y resonancia magnética, comparando el estado óseo de los estudios previos al tratamiento y los sucesivos a lo largo del seguimiento:**

Radiológicamente se aprecia en la mayoría de los pacientes una estabilización del cuadro, manteniendo el mismo grado de clasificación ARCO que la basal, y evitando en algunos de ellos la progresión a estadios post-colapso, donde la única opción terapéutica viable sería la artroplastia de cadera.

**ANEXOS**



## 8. Anexos

### Anexo I. Consentimiento informado por escrito de participación en el ensayo

Promotor: Fundación de la Universidad de Salamanca  
Protocolo: CSM/ON/2011

59  
Estudio de Regeneración Ósea

#### DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DE UNA PERFORACIÓN FORAGE DE LA CADERA

##### ETIQUETA

##### DECLARO

QUE EL DOCTOR/A DON/DOÑA Juan F. Blanco me ha explicado que es conveniente proceder, en mi situación, a TRATAMIENTO QUIRÚRGICO CONSISTENTE EN EL **FORAGE O PERFORACIÓN DE LA CABEZA FEMORAL**

1. El propósito principal de la intervención es aliviar el dolor y la discapacidad y consecuentemente mejorar la calidad de vida del paciente (nivel de actividad, etc.). También son objetivos de la cirugía evitar el deterioro progresivo de la cabeza femoral.

2. La intervención precisa de anestesia, que será valorada por el servicio de Anestesiología.

3. La intervención consiste en la realización de una perforación también llamado forage del cuello y de la cabeza femoral (en su área lesionada) y en la aplicación a través de esa perforación de una suspensión de células madre.

4. Toda intervención quirúrgica tanto por la propia técnica operatoria, como por la situación vital de cada paciente (diabetes, cardiopatía, hipertensión, edad avanzada, anemia, obesidad...) lleva implícitas una serie de complicaciones comunes y potencialmente serias que podrían requerir tratamientos complementarios, tanto médicos como quirúrgicos, así como un mínimo porcentaje de mortalidad.

5. Las complicaciones de la intervención quirúrgica para LA REALIZACIÓN DE un **FORAGE O PERFORACIÓN FEMORAL** pueden ser:

- a) Problemas vasculares: trombosis, hemorragia
- b) Infección de la herida quirúrgica.
- c) Lesión de los vasos adyacentes. Si se afecta un gran vaso puede producirse una hemorragia masiva, lo que podría ocasionar incluso la muerte.
- d) Lesión o afectación de los nervios adyacentes, lo que podría ocasionar trastornos sensitivos y/o motores(parálisis) que pueden ser irreversibles.
- e) Enfermedad tromboembólica, que puede dar lugar, en el peor de los casos, a embolismo pulmonar y muerte.
- f) Rotura o estallido del hueso que se manipula en la intervención, en este caso EL FÉMUR.
- g) Complicaciones cutáneas (necrosis de la piel, dehiscencia de la herida etc.).
- h) PERSISTENCIA DE LOS SÍNTOMA
- i) Puede ser necesaria la transfusión de sangre.
- j) Fracaso en la consecución de la REGENERACIÓN ósea, lo que puede originar la necesidad de nuevas intervenciones, generalmente EL IMPLANTE DE UAN PRÓTESIS TOTAL DE CADERA

6. Si en el momento del acto quirúrgico surgiera algún imprevisto, el equipo médico podrá variar la técnica quirúrgica programada.

He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

Por ello, manifiesto que estoy satisfecho con la información recibida y comprendo el alcance y los riesgos del tratamiento.

Y en tales condiciones

*Versión 3ª de 21 de Junio de 2012*



**SERVICIO DE CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA  
 HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA. VIRGEN DE LA VEGA  
 SALAMANCA**

*CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO*

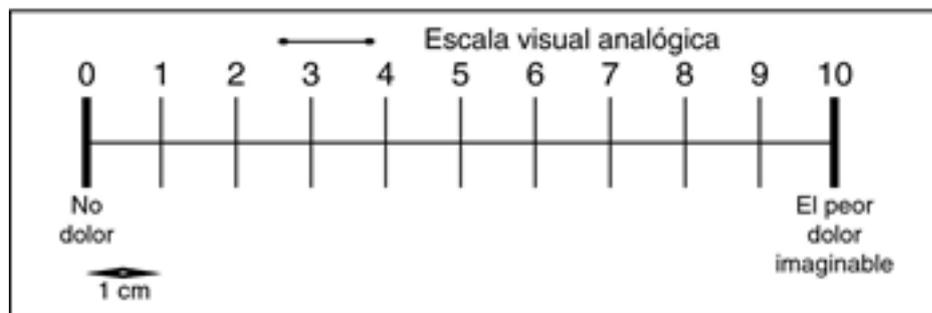
**\* ENSAYO CLÍNICO FASE II PROSPECTIVO, ABIERTO, NO ALEATORIZADO DE TRATAMIENTO DE LA OSTEONECROSIS DE LA CABEZA FEMORAL MEDIANTE LA ADMINISTRACIÓN DE CÉLULAS MESENQUIMALES AUTÓLOGAS \***

- Yo, .....
- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con.....
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
  - 1º Cuando quiera.
  - 2º Sin tener que dar explicaciones.
  - 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
- Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.
- Fecha Firma del participante

*Versión 3ª de 21 de Junio de 2012*



**Anexo II. Escala Visual Analógica del Dolor (EVA)**





### Anexo III. Cuestionario Harris de Cadera (*Harris Hip Score*)

<b>Cuestionario Harris de Cadera</b>		
<b>1. DOLOR</b>		
Ninguno .....	44 [ ]	
Ligero.....	40 [ ]	
Mediano .....	30 [ ]	
Moderado.....	20 [ ]	
Intenso .....	10 [ ]	
Invalidante.....	0 [ ]	
<b>2. FUNCIÓN [Marcha]</b>		
<b>a) Cojera</b>		
Ninguna .....	11 [ ]	
Ligera.....	8 [ ]	
Moderada .....	5 [ ]	
Severa.....	0 [ ]	
Incapaz de andar .....	0 [ ]	
<b>b) Soporte externo</b>		
Ninguno .....	11 [ ]	
1 bastón larga distancia....	7 [ ]	
1 bastón continuamente ...	5 [ ]	
1 muleta .....	4 [ ]	
2 bastones .....	2 [ ]	
2 muletas .....	0 [ ]	
Incapaz de andar .....	0 [ ]	
<b>c) Distancia</b>		
Ilimitada.....	11 [ ]	
600 m .....	8 [ ]	
200-300 m.....	5 [ ]	
Sólo en casa .....	2 [ ]	
Cama-silla. ....	0 [ ]	
<b>3. ACTIVIDADES</b>		
<b>a) Escaleras</b>		
Normalmente.....	4 [ ]	
Normalmente con pasamanos.....	2 [ ]	
Cualquier otro método .....	1 [ ]	
Incapaz .....	0 [ ]	
<b>b) Calzarse</b>		
Fácilmente.....	4 [ ]	
Con dificultad.....	2 [ ]	
Incapaz .....	0 [ ]	
<b>c) Sentarse</b>		
Cualquier silla, 1 hora.....	4 [ ]	
Silla alta media hora.....	2 [ ]	
Incapaz de sentarse media hora .....	0 [ ]	
<b>d) Transporte público</b>		
Capaz de uso.....	1 [ ]	
Incapaz.....	0 [ ]	
<b>4. AUSENCIA DE DEFORMIDAD .....</b>	<b>4 [ ]</b>	
[Requiere las 4 enumeradas a continuación]		
a) Add. fija < 10°		
b) R. I. fija < 10°		
c) Dismetría < 3,2 cm		
d) Flex. fija < 30°		
Si tiene alguna de ellas más grave .....	0 [ ]	
<b>5. MOVILIDAD</b>		
<b>a) Flex.....</b>		
[N = 140°]		
<b>b) Abd.....</b>		
[N= 40°]		
<b>c) Add.....</b>		
[N= 40°]		
<b>d) R. E.</b>		
[N= 40°]		
<b>e) R. I.</b>		
[N= 40°]		
<b>Total grados.....</b>		
<b>Grados..... Puntos</b>		
210-300.....	6 [ ]	
160-210.....	5 [ ]	
100-160.....	4 [ ]	
60-100.....	3 [ ]	
30- 60.....	2 [ ]	
0- 30.....	1 [ ]	
<b>PUNTUACIÓN</b>		
1. DOLOR [44] .....		
2. FUNCIÓN [33].....		
3. ACTIVIDAD [13].....		
4. AUSENCIA DEFORMIDAD [4].....		
5. MOVILIDAD [6].....		
<b>TOTAL PUNTOS [100] .....</b>		



## Anexo IV. Cuestionario de Salud SF-36

**Cuestionario de Salud SF-36**

1.- En general, usted diría que su **salud** es:

- 1  Excelente  
 2  Muy buena  
 3  Buena  
 4  Regular  
 5  Mala

2.- ¿Cómo diría que es su **salud actual**,  
 comparada con la de hace un año?

- 1  Mucho mejor ahora que hace un año  
 2  Algo mejor ahora que hace un año  
 3  Más o menos igual que hace un año  
 4  Algo peor ahora que hace un año  
 5  Mucho peor ahora que hace un año

LAS SIGUIENTES PREGUNTAS SE  
 REFIEREN A ACTIVIDADES O COSAS QUE  
 USTED PODRÍA HACER EN UN DÍA  
 NORMAL.

3.- Su salud actual, ¿le limita para hacer  
**esfuerzos intensos**, tales como correr,  
 levantar objetos pesados, o participar en  
 deportes agotadores?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

4.- Su salud actual, ¿le limita para hacer  
**esfuerzos moderados**, como mover una  
 mesa, pasar la aspiradora, jugar a los bolos o  
 caminar más de una hora?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

5.- Su salud actual, ¿le limita para **coger o llevar**  
**la bolsa de la compra**?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

6.- Su salud actual, ¿le limita para **subir varios**  
**pisos** por la escalera?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

7.- Su salud actual, ¿le limita para **subir un solo**  
**piso** por la escalera?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

8.- Su salud actual, ¿le limita para **agacharse o**  
**arrodillarse**?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

9.- Su salud actual, ¿le limita para caminar **un**  
**kilómetro o más**?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

10.- Su salud actual, ¿le limita para caminar  
**varias manzanas** (varios centenares de  
 metros)?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

11.- Su salud actual, ¿le limita para caminar **una**  
**sola manzana** (unos 100 metros)?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

12.- Su salud actual, ¿le limita para **bañarse o**  
**vestirse por sí mismo**?

- 1  Sí, me limita mucho  
 2  Sí, me limita un poco  
 3  No, no me limita nada

LAS SIGUIENTES PREGUNTAS SE REFIEREN A PROBLEMAS EN SU TRABAJO O EN SUS ACTIVIDADES COTIDIANAS.

13.- Durante las 4 últimas semanas, ¿tuvo que **reducir el tiempo** dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?

1  Sí  
2  No

14.- Durante las 4 últimas semanas, ¿**hizo menos** de lo que hubiera querido hacer, a causa de su salud física?

1  Sí  
2  No

15.- Durante las 4 últimas semanas, ¿tuvo que **dejar de hacer algunas tareas** en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?

1  Sí  
2  No

16.- Durante las 4 últimas semanas, ¿tuvo **dificultad** para hacer su trabajo o sus actividades cotidianas (por ejemplo, le costó más de lo normal), a causa de su salud física?

1  Sí  
2  No

17.- Durante las 4 últimas semanas, ¿tuvo que **reducir el tiempo** dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

1  Sí  
2  No

18.- Durante las 4 últimas semanas, ¿**hizo menos** de lo que hubiera querido hacer, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

1  Sí  
2  No

19.- Durante las 4 últimas semanas, ¿no hizo su trabajo o sus actividades cotidianas tan **cuidadosamente** como de costumbre, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

1  Sí  
2  No

20.- Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto su salud física o los problemas emocionales han dificultado sus actividades sociales habituales con la familia, los amigos, los vecinos u otras personas?

1  Nada  
2  Un poco  
3  Regular  
4  Bastante  
5  Mucho

21.- ¿Tuvo **dolor** en alguna parte del cuerpo durante las 4 últimas semanas?

1  No, ninguno  
2  Sí, muy poco  
3  Sí, un poco  
4  Sí, moderado  
5  Sí, mucho  
6  Sí, muchísimo

22.- Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto el dolor le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)?

1  Nada  
2  Un poco  
3  Regular  
4  Bastante  
5  Mucho

LAS PREGUNTAS QUE SIGUEN SE REFIEREN A CÓMO SE HA SENTIDO Y CÓMO LE HAN IDO LAS COSAS DURANTE LAS 4 ÚLTIMAS SEMANAS. EN CADA PREGUNTA RESPONDA LO QUE SE PAREZCA MÁS A CÓMO SE HA SENTIDO USTED.

23.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió lleno de **vitalidad**?

1  Siempre  
2  Casi siempre

- 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

24.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo estuvo muy **nervioso**?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

25.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo se sintió tan **bajo de moral** que nada

podía animarle?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

26.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo se sintió **calmado y tranquilo**?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

27.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo tuvo **mucha energía**?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

28.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo se sintió **desanimado y triste**?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

29.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo se sintió **agotado**?

- 1  Siempre

- 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

30.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo se sintió **feliz**?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

31.- Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto

tiempo se sintió **cansado**?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Muchas veces  
 4  Algunas veces  
 5  Sólo alguna vez  
 6  Nunca

32.- Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué

frecuencia la salud física o los problemas

emocionales le han dificultado sus

actividades sociales (como visitar a los

amigos o familiares)?

- 1  Siempre  
 2  Casi siempre  
 3  Algunas veces  
 4  Sólo alguna vez  
 5  Nunca

**POR FAVOR, DIGA SI LE PARECE CIERTA  
O FALSA CADA UNA DE LAS SIGUIENTES  
 FRASES.**

33.- Creo que me pongo enfermo más fácilmente

que otras personas.

- 1  Totalmente cierta  
 2  Bastante cierta  
 3  No lo sé  
 4  Bastante falsa  
 5  Totalmente falsa

34.- Estoy tan sano como cualquiera.

- 1  Totalmente cierta  
 2  Bastante cierta  
 3  No lo sé  
 4  Bastante falsa  
 5  Totalmente falsa

35.- Creo que mi salud va a empeorar.

- 1  Totalmente cierta
- 2  Bastante cierta
- 3  No lo sé
- 4  Bastante falsa
- 5  Totalmente falsa

36.- Mi salud es excelente.

- 1  Totalmente cierta
- 2  Bastante cierta
- 3  No lo sé
- 4  Bastante falsa
- 5  Totalmente falsa

## **BIBLIOGRAFÍA**



## 9. Bibliografía

1. Nixon JE. Avascular necrosis of bone: a review. *J R Soc Med.* Aug 1983;76(8):681-692.
2. Callaghan J, Rosenberg A, Rubash H. *Cadera.* Vol 1. 2º ed: Marbán; 2006.
3. Mankin HJ. Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis). *N Engl J Med.* May 28 1992;326(22):1473-1479.
4. Herndon JH, Aufranc OE. Avascular necrosis of the femoral head in the adult. A review of its incidence in a variety of conditions. *Clin Orthop Relat Res.* Jul-Aug 1972;86:43-62.
5. Ikeuchi K, Hasegawa Y, Seki T, Takegami Y, Amano T, Ishiguro N. Epidemiology of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head in Japan. *Mod Rheumatol.* Mar 2015;25(2):278-281.
6. Zhao DW, Yu M, Hu K, et al. Prevalence of Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head and its Associated Risk Factors in the Chinese Population: Results from a Nationally Representative Survey. *Chin Med J (Engl).* Nov 05 2015;128(21):2843-2850.
7. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Indicadores y Eje de Análisis del CMBD. 2018.
8. Gutierrez F, Padilla S, Masia M, et al. Osteonecrosis in patients infected with HIV: clinical epidemiology and natural history in a large case series from Spain. *J Acquir Immune Defic Syndr.* Jul 2006;42(3):286-292.
9. Mont MA, Cherian JJ, Sierra RJ, Jones LC, Lieberman JR. Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head: Where Do We Stand Today? A Ten-Year Update. *J Bone Joint Surg Am.* Oct 7 2015;97(19):1604-1627.
10. Hauzeur JP, Pasteels JL, Orloff S. Bilateral non-traumatic aseptic osteonecrosis in the femoral head. An experimental study of incidence. *J Bone Joint Surg Am.* Oct 1987;69(8):1221-1225.
11. Lieberman JR, Berry DJ, Mont MA, et al. Osteonecrosis of the hip: management in the 21st century. *Instr Course Lect.* 2003;52:337-355.

12. Mont MA, Jones LC, Hungerford DS. Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: ten years later. *J Bone Joint Surg Am.* May 2006;88(5):1117-1132.
13. Campbell W, Canale T, Beaty J. *Cirugía Ortopédica.* Vol 1. 11 ed: Marbán; 2013.
14. Firestein G, Budd R, Gabriel S, McInnes I, O'Dell J. *Kelley's Textbook of Rheumatology.* 9 ed; 2013.
15. Matsuo K, Hirohata T, Sugioka Y, Ikeda M, Fukuda A. Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* Sep 1988(234):115-123.
16. Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, et al. Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Am J Epidemiol.* Mar 1 1993;137(5):530-538.
17. Zizic TM, Marcoux C, Hungerford DS, Dansereau JV, Stevens MB. Corticosteroid therapy associated with ischemic necrosis of bone in systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* Nov 1985;79(5):596-604.
18. Vakil N, Sparberg M. Steroid-related osteonecrosis in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* Jan 1989;96(1):62-67.
19. Felson DT, Anderson JJ. Across-study evaluation of association between steroid dose and bolus steroids and avascular necrosis of bone. *Lancet.* Apr 18 1987;1(8538):902-906.
20. Sakamoto M, Shimizu K, Iida S, Akita T, Moriya H, Nawata Y. Osteonecrosis of the femoral head: a prospective study with MRI. *J Bone Joint Surg Br.* Mar 1997;79(2):213-219.
21. Koo KH, Kim R, Kim YS, et al. Risk period for developing osteonecrosis of the femoral head in patients on steroid treatment. *Clin Rheumatol.* Aug 2002;21(4):299-303.
22. Fink B, Degenhardt S, Paselk C, Schneider T, Modder U, Ruther W. Early detection of avascular necrosis of the femoral head following renal transplantation. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1997;116(3):151-156.
23. Glassman SD, Anagnost SC, Parker A, Burke D, Johnson JR, Dimar JR. The effect of cigarette smoking and smoking cessation on spinal fusion. *Spine (Phila Pa 1976).* Oct 15 2000;25(20):2608-2615.

24. Gullihorn L, Karpman R, Lippiello L. Differential effects of nicotine and smoke condensate on bone cell metabolic activity. *J Orthop Trauma*. Jan 2005;19(1):17-22.
25. Axelrod AR, Clifford GO, Tanaka KR. Sick cell anemia (homozygous S) with aseptic necrosis of femoral head. *Blood*. Nov 1956;11(11):998-1008.
26. Barton CJ, Cockshott WP. Bone changes in hemoglobin SC disease. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med*. Sep 1962;88:523-532.
27. Departamento de Trabajo de los Estados Unidos (2018). Administración de Seguridad y Salud Ocupacional. Recuperado de <https://www.osha.gov/spanish/index.html>.
28. de Larranaga G, Bottaro E, Martinuzzo M, et al. Thrombophilia in human immunodeficiency virus-infected patients with osteonecrosis: Is there a real connection? The first case-control study. *Clin Appl Thromb Hemost*. May-Jun 2009;15(3):340-347.
29. Blacksin MF, Kloser PC, Simon J. Avascular necrosis of bone in human immunodeficiency virus infected patients. *Clin Imaging*. Sep-Oct 1999;23(5):314-318.
30. Miller KD, Masur H, Jones EC, et al. High prevalence of osteonecrosis of the femoral head in HIV-infected adults. *Ann Intern Med*. Jul 2 2002;137(1):17-25.
31. Bonfanti P, Grabbuti A, Carradori S, et al. Osteonecrosis in protease inhibitor-treated patients. *Orthopedics*. Mar 2001;24(3):271-272.
32. Hasse B, Ledergerber B, Egger M, et al. Antiretroviral treatment and osteonecrosis in patients of the Swiss HIV Cohort Study: a nested case-control study. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Sep 2004;20(9):909-915.
33. Koller E, Mann M, Malozowski S, Bacsanyi J, Gibert C. Aseptic necrosis in HIV seropositive patients: a possible etiologic role for megestrol acetate. *AIDS Patient Care STDS*. Aug 2000;14(8):405-410.
34. Ries MD, Barcohana B, Davidson A, Jergesen HE, Paiement GD. Association between human immunodeficiency virus and osteonecrosis of the femoral head. *J Arthroplasty*. Feb 2002;17(2):135-139.

35. Hasegawa Y, Iwase T, Iwasada S, Kitamura S, Iwata H. Osteonecrosis of the femoral head associated with pregnancy. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1999;119(1-2):112-114.
36. Vandebussche E, Madhar M, Nich C, Zribi W, Abdallah T, Augereau B. Bilateral osteonecrosis of the femoral head after pregnancy. *Arch Orthop Trauma Surg.* Apr 2005;125(3):201-203.
37. Sen P, Mukhopadhyay S, Desai VV. Avascular necrosis of femoral head associated with pregnancy. *J Obstet Gynaecol.* Apr 2006;26(3):269-270.
38. Ugwonalu OF, Sarkissian H, Nercessian OA. Bilateral osteonecrosis of the femoral head associated with pregnancy: four new cases and a review of the literature. *Orthopedics.* Feb 2008;31(2):183.
39. Rouvière H, Delmas A, Delmas V. *Anatomía Humana Descriptiva, topográfica y funcional.* Vol 3. 11 ed; 2005.
40. Gautier E, Ganz K, Krugel N, Gill T, Ganz R. Anatomy of the medial femoral circumflex artery and its surgical implications. *J Bone Joint Surg Br.* Jul 2000;82(5):679-683.
41. Zlotorowicz M, Szczodry M, Czubak J, Ciszek B. Anatomy of the medial femoral circumflex artery with respect to the vascularity of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br.* Nov 2011;93(11):1471-1474.
42. Lazaro LE, Klinger CE, Sculco PK, Helfet DL, Lorich DG. The terminal branches of the medial femoral circumflex artery: the arterial supply of the femoral head. *Bone Joint J.* Sep 2015;97-b(9):1204-1213.
43. Zalavras C, Dailiana Z, Elisaf M, et al. Potential aetiological factors concerning the development of osteonecrosis of the femoral head. *Eur J Clin Invest.* Mar 2000;30(3):215-221.
44. Glueck CJ, Freiberg RA, Wang P. Heritable thrombophilia-hypofibrinolysis and osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* May 2008;466(5):1034-1040.
45. Aldridge JM, 3rd, Urbaniak JR. Avascular necrosis of the femoral head: etiology, pathophysiology, classification, and current treatment guidelines. *Am J Orthop (Belle Mead NJ).* Jul 2004;33(7):327-332.

46. Elishkewich K, Kaspi D, Shapira I, Meites D, Berliner S. Idiopathic osteonecrosis in an adult with familial protein S deficiency and hyperhomocysteinemia. *Blood Coagul Fibrinolysis*. Oct 2001;12(7):547-550.
47. Ferrari P, Schroeder V, Anderson S, et al. Association of plasminogen activator inhibitor-1 genotype with avascular osteonecrosis in steroid-treated renal allograft recipients. *Transplantation*. Oct 27 2002;74(8):1147-1152.
48. Chang CC, Greenspan A, Gershwin ME. Osteonecrosis: current perspectives on pathogenesis and treatment. *Semin Arthritis Rheum*. Aug 1993;23(1):47-69.
49. Suh KT, Kim SW, Roh HL, Youn MS, Jung JS. Decreased osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in alcohol-induced osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*. Feb 2005(431):220-225.
50. Liu YF, Chen WM, Lin YF, et al. Type II collagen gene variants and inherited osteonecrosis of the femoral head. *N Engl J Med*. Jun 02 2005;352(22):2294-2301.
51. Elmallah RK, Mont MA. Is There an Anatomic Basis for Hip Osteonecrosis? Commentary on an article by Matthieu Ollivier, MD, et al.: "Anatomical Findings in Patients Undergoing Total Hip Arthroplasty for Idiopathic Femoral Head Osteonecrosis". *J Bone Joint Surg Am*. Apr 20 2016;98(8):e35.
52. Maranhão DA, Nogueira-Barbosa MH, Zamarioli A, Volpon JB. MRI abnormalities of the acetabular labrum and articular cartilage are common in healed Legg-Calve-Perthes disease with residual deformities of the hip. *J Bone Joint Surg Am*. Feb 06 2013;95(3):256-265.
53. Ollivier M, Lunebourg A, Abdel MP, Parratte S, Argenson JN. Anatomical Findings in Patients Undergoing Total Hip Arthroplasty for Idiopathic Femoral Head Osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Am*. Apr 20 2016;98(8):672-676.
54. Kenzora JE, Glimcher MJ. Accumulative cell stress: the multifactorial etiology of idiopathic osteonecrosis. *Orthop Clin North Am*. Oct 1985;16(4):669-679.
55. Mont MA, Jones LC, Sotereanos DG, Amstutz HC, Hungerford DS. Understanding and treating osteonecrosis of the femoral head. *Instr Course Lect*. 2000;49:169-185.

56. Hungerford DS, Jones LC. Asymptomatic osteonecrosis: should it be treated? *Clin Orthop Relat Res.* Dec 2004(429):124-130.
57. Nam KW, Kim YL, Yoo JJ, Koo KH, Yoon KS, Kim HJ. Fate of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* Mar 2008;90(3):477-484.
58. Jergesen HE, Khan AS. The natural history of untreated asymptomatic hips in patients who have non-traumatic osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Am.* Mar 1997;79(3):359-363.
59. Bradway JK, Morrey BF. The natural history of the silent hip in bilateral atraumatic osteonecrosis. *J Arthroplasty.* Aug 1993;8(4):383-387.
60. Min BW, Song KS, Cho CH, Lee SM, Lee KJ. Untreated asymptomatic hips in patients with osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* May 2008;466(5):1087-1092.
61. Takatori Y, Kokubo T, Ninomiya S, Nakamura S, Morimoto S, Kusaba I. Avascular necrosis of the femoral head. Natural history and magnetic resonance imaging. *J Bone Joint Surg Br.* Mar 1993;75(2):217-221.
62. Mont MA, Zywiol MG, Marker DR, McGrath MS, Delanois RE. The natural history of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head: a systematic literature review. *J Bone Joint Surg Am.* Sep 15 2010;92(12):2165-2170.
63. Moya-Angeler J, Gianakos AL, Villa JC, Ni A, Lane JM. Current concepts on osteonecrosis of the femoral head. *World J Orthop.* Sep 18 2015;6(8):590-601.
64. Nelson FR, Bhandarkar VS, Woods TA. Using hip measures to avoid misdiagnosing early rapid onset osteoarthritis for osteonecrosis. *J Arthroplasty.* Jun 2014;29(6):1243-1247.
65. Zalavras CG, Lieberman JR. Osteonecrosis of the femoral head: evaluation and treatment. *J Am Acad Orthop Surg.* Jul 2014;22(7):455-464.
66. Norman A, Bullough P. The radiolucent crescent line--an early diagnostic sign of avascular necrosis of the femoral head. *Bull Hosp Joint Dis.* Apr 1963;24:99-104.

67. Ito H, Matsuno T, Minami A. Relationship between bone marrow edema and development of symptoms in patients with osteonecrosis of the femoral head. *AJR Am J Roentgenol*. Jun 2006;186(6):1761-1770.
68. Khanna AJ, Yoon TR, Mont MA, Hungerford DS, Bluemke DA. Femoral head osteonecrosis: detection and grading by using a rapid MR imaging protocol. *Radiology*. Oct 2000;217(1):188-192.
69. Hernigou P, Lambotte JC. Volumetric analysis of osteonecrosis of the femur. Anatomical correlation using MRI. *J Bone Joint Surg Br*. Jul 2001;83(5):672-675.
70. Koo KH, Kim R. Quantifying the extent of osteonecrosis of the femoral head. A new method using MRI. *J Bone Joint Surg Br*. Nov 1995;77(6):875-880.
71. May DA, Disler DG. Screening for avascular necrosis of the hip with rapid MRI: preliminary experience. *J Comput Assist Tomogr*. Mar-Apr 2000;24(2):284-287.
72. Yeh LR, Chen CK, Huang YL, Pan HB, Yang CF. Diagnostic performance of MR imaging in the assessment of subchondral fractures in avascular necrosis of the femoral head. *Skeletal Radiol*. Jun 2009;38(6):559-564.
73. Scheiber C, Meyer ME, Dumitresco B, et al. The pitfalls of planar three-phase bone scintigraphy in nontraumatic hip avascular osteonecrosis. *Clin Nucl Med*. Jul 1999;24(7):488-494.
74. Schmitt-Sody M, Kirchhoff C, Mayer W, Goebel M, Jansson V. Avascular necrosis of the femoral head: inter- and intraobserver variations of Ficat and ARCO classifications. *Int Orthop*. Jun 2008;32(3):283-287.
75. Lee GC, Steinberg ME. Are we evaluating osteonecrosis adequately? *Int Orthop*. Dec 2012;36(12):2433-2439.
76. Zibis AH, Karantanas AH, Roidis NT, et al. The role of MR imaging in staging femoral head osteonecrosis. *Eur J Radiol*. Jul 2007;63(1):3-9.
77. Mont MA, Marulanda GA, Jones LC, et al. Systematic analysis of classification systems for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am*. Nov 2006;88 Suppl 3:16-26.
78. Ficat RP, Arlet J, Hungerford DS. Ischemia and Necrosis of Bone. In: Wilkins Wa, ed. *Functional investigation of bone under normal conditions*; 1980:29-52.

79. Ficat RP. Idiopathic bone necrosis of the femoral head. Early diagnosis and treatment. *J Bone Joint Surg Br.* Jan 1985;67(1):3-9.
80. Steinberg ME, Hayken GD, Steinberg DR. A quantitative system for staging avascular necrosis. *J Bone Joint Surg Br.* Jan 1995;77(1):34-41.
81. ARCO (Association Research Circulation Osseus): Committee on Terminology and Classification. *ARCO News.* 1992;4:41-46.
82. Ono K. Diagnostic criteria, staging system and roentgenographic classification of avascular necrosis of the femoral head (steroid induced, alcohol associated or idiopathic nature). In: Ono K, ed. *Annual Report of Japanese Investigation Committee for Intractable Disease, Avascular Necrosis of the Femoral Head.* Tokyo, Japan: Ministry of Health and Welfare; 1987:331-336.
83. Ohzono K, Saito M, Sugano N, Takaoka K, Ono K. The fate of nontraumatic avascular necrosis of the femoral head. A radiologic classification to formulate prognosis. *Clin Orthop Relat Res.* Apr 1992(277):73-78.
84. Sugano N, Atsumi T, Ohzono K, Kubo T, Hotokebuchi T, Takaoka K. The 2001 revised criteria for diagnosis, classification, and staging of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Sci.* 2002;7(5):601-605.
85. Szwedowski D, Nitek Z, Walecki J. Evaluation of transient osteoporosis of the hip in magnetic resonance imaging. *Pol J Radiol.* 2014;79:36-38.
86. Korompilias AV, Karantanas AH, Lykissas MG, Beris AE. Transient osteoporosis. *J Am Acad Orthop Surg.* Aug 2008;16(8):480-489.
87. Patel S. Primary bone marrow oedema syndromes. *Rheumatology (Oxford).* May 2014;53(5):785-792.
88. Yoon PW, Kwak HS, Yoo JJ, Yoon KS, Kim HJ. Subchondral insufficiency fracture of the femoral head in elderly people. *J Korean Med Sci.* Apr 2014;29(4):593-598.
89. Yamamoto T. Subchondral insufficiency fractures of the femoral head. *Clin Orthop Surg.* Sep 2012;4(3):173-180.
90. Ikemura S, Yamamoto T, Motomura G, Nakashima Y, Mawatari T, Iwamoto Y. The utility of clinical features for distinguishing subchondral insufficiency fracture from osteonecrosis of the femoral head. *Arch Orthop Trauma Surg.* Dec 2013;133(12):1623-1627.

91. Alves EM, Angrisani AT, Santiago MB. The use of extracorporeal shock waves in the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a systematic review. *Clin Rheumatol*. Nov 2009;28(11):1247-1251.
92. Wang CJ, Wang FS, Huang CC, Yang KD, Weng LH, Huang HY. Treatment for osteonecrosis of the femoral head: comparison of extracorporeal shock waves with core decompression and bone-grafting. *J Bone Joint Surg Am*. Nov 2005;87(11):2380-2387.
93. Massari L, Fini M, Cadossi R, Setti S, Traina GC. Biophysical stimulation with pulsed electromagnetic fields in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am*. Nov 2006;88 Suppl 3:56-60.
94. Yen-Patton GP, Patton WF, Beer DM, Jacobson BS. Endothelial cell response to pulsed electromagnetic fields: stimulation of growth rate and angiogenesis in vitro. *J Cell Physiol*. Jan 1988;134(1):37-46.
95. Camporesi EM, Vezzani G, Bosco G, Mangar D, Bernasek TL. Hyperbaric oxygen therapy in femoral head necrosis. *J Arthroplasty*. Sep 2010;25(6 Suppl):118-123.
96. Reis ND, Schwartz O, Militianu D, et al. Hyperbaric oxygen therapy as a treatment for stage-I avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br*. Apr 2003;85(3):371-375.
97. Agarwala S, Shah S, Joshi VR. The use of alendronate in the treatment of avascular necrosis of the femoral head: follow-up to eight years. *J Bone Joint Surg Br*. Aug 2009;91(8):1013-1018.
98. Agarwala S, Shah SB. Ten-year follow-up of avascular necrosis of femoral head treated with alendronate for 3 years. *J Arthroplasty*. Oct 2011;26(7):1128-1134.
99. Chen CH, Chang JK, Lai KA, Hou SM, Chang CH, Wang GJ. Alendronate in the prevention of collapse of the femoral head in nontraumatic osteonecrosis: a two-year multicenter, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum*. May 2012;64(5):1572-1578.
100. Disch AC, Matziolis G, Perka C. The management of necrosis-associated and idiopathic bone-marrow oedema of the proximal femur by intravenous iloprost. *J Bone Joint Surg Br*. Apr 2005;87(4):560-564.

101. Jager M, Tillmann FP, Thornhill TS, et al. Rationale for prostaglandin I<sub>2</sub> in bone marrow oedema--from theory to application. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(5):R120.
102. Glueck CJ, Freiberg RA, Sieve L, Wang P. Enoxaparin prevents progression of stages I and II osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res.* Jun 2005(435):164-170.
103. Pritchett JW. Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. *Clin Orthop Relat Res.* May 2001(386):173-178.
104. McGrory BJ, York SC, Iorio R, et al. Current practices of AAHKS members in the treatment of adult osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* Jun 2007;89(6):1194-1204.
105. Brodie BC. An Account of some Cases of Chronic Abscess of the Tibia. *Med Chir Trans.* 1832;17:239-249.
106. Brainard D. Essay on a new method of treating ununited fractures and certain deformities of the osseous system. *TY. A. M. A., 7: 557, 1854.* 1854.
107. Phemister DB. Operation for epiphysitis of the head of the femur (Perthe's Disease): findings and result. *Archives of Surgery.* 1921;2(2):221-230.
108. Bozsán EJ. Compression of cancellous bone: Principal manifestations in the head and neck of the femur treatment by connecting drill channels. *The American Journal of Surgery.* 1941;Volume 53, Issue 3, September 1941, Pages 541-618.
109. Arlet J. FP. Forage-biopsie de la tete fémorale dan lóstéonécrose primitive: Observations histopathologiques portant sur huit forages. *Rev Rhum Mal Osteoartic.* 1964;31:257-258.
110. Ficat P. AJ, Vidal R., Ricci A., Fournial JC. Résultats thérapeutiques du forage-biopsie dans les ostéonécroses fémoro-capitales primitives(100cas). *Rev Rhum Mal Osteoartic.* 1972;38:269-270.
111. Mont MA, Ragland PS, Etienne G. Core decompression of the femoral head for osteonecrosis using percutaneous multiple small-diameter drilling. *Clin Orthop Relat Res.* Dec 2004(429):131-138.
112. Veillette CJ, Mehdian H, Schemitsch EH, McKee MD. Survivorship analysis and radiographic outcome following tantalum rod insertion for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* Nov 2006;88 Suppl 3:48-55.

113. Tanzer M, Bobyn JD, Krygier JJ, Karabasz D. Histopathologic retrieval analysis of clinically failed porous tantalum osteonecrosis implants. *J Bone Joint Surg Am.* Jun 2008;90(6):1282-1289.
114. Banerjee S, Issa K, Pivec R, Kapadia BH, Khanuja HS, Mont MA. Osteonecrosis of the hip: treatment options and outcomes. *Orthop Clin North Am.* Oct 2013;44(4):463-476.
115. Seyler TM, Marker DR, Ulrich SD, Fatscher T, Mont MA. Nonvascularized bone grafting defers joint arthroplasty in hip osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* May 2008;466(5):1125-1132.
116. Urbaniak JR, Coogan PG, Gunneson EB, Nunley JA. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with free vascularized fibular grafting. A long-term follow-up study of one hundred and three hips. *J Bone Joint Surg Am.* May 1995;77(5):681-694.
117. Eward WC, Rineer CA, Urbaniak JR, Richard MJ, Ruch DS. The vascularized fibular graft in precollapse osteonecrosis: is long-term hip preservation possible? *Clin Orthop Relat Res.* Oct 2012;470(10):2819-2826.
118. Sugioka Y. Transtrochanteric anterior rotational osteotomy of the femoral head in the treatment of osteonecrosis affecting the hip: a new osteotomy operation. *Clin Orthop Relat Res.* Jan-Feb 1978(130):191-201.
119. Mont MA, Fairbank AC, Krackow KA, Hungerford DS. Corrective osteotomy for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* Jul 1996;78(7):1032-1038.
120. Ha YC, Kim HJ, Kim SY, Kim KC, Lee YK, Koo KH. Effects of age and body mass index on the results of transtrochanteric rotational osteotomy for femoral head osteonecrosis: surgical technique. *J Bone Joint Surg Am.* Mar 2011;93 Suppl 1:75-84.
121. Park KS, Tumin M, Peni I, Yoon TR. Conversion total hip arthroplasty after previous transtrochanteric rotational osteotomy for osteonecrosis of the femoral head. *J Arthroplasty.* Apr 2014;29(4):813-816.
122. Amstutz HC, Le Duff MJ. Hip resurfacing for osteonecrosis: two- to 18-year results of the Conserve Plus design and technique. *Bone Joint J.* Jul 2016;98-b(7):901-909.

123. Kabata T, Maeda T, Tanaka K, et al. Hemi-resurfacing versus total resurfacing for osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. Aug 2011;19(2):177-180.
124. Amstutz HC, Beaulé PE, Dorey FJ, Le Duff MJ, Campbell PA, Gruen TA. Metal-on-metal hybrid surface arthroplasty. Surgical Technique. *J Bone Joint Surg Am*. Sep 2006;88 Suppl 1 Pt 2:234-249.
125. Kim YH, Kim JS, Park JW, Joo JH. Contemporary total hip arthroplasty with and without cement in patients with osteonecrosis of the femoral head: a concise follow-up, at an average of seventeen years, of a previous report. *J Bone Joint Surg Am*. Oct 05 2011;93(19):1806-1810.
126. Johannson HR, Zywił MG, Marker DR, Jones LC, McGrath MS, Mont MA. Osteonecrosis is not a predictor of poor outcomes in primary total hip arthroplasty: a systematic literature review. *Int Orthop*. Apr 2011;35(4):465-473.
127. Kim SM, Lim SJ, Moon YW, Kim YT, Ko KR, Park YS. Cementless modular total hip arthroplasty in patients younger than fifty with femoral head osteonecrosis: minimum fifteen-year follow-up. *J Arthroplasty*. Mar 2013;28(3):504-509.
128. Chen C, Yang S, Feng Y, et al. Impairment of two types of circulating endothelial progenitor cells in patients with glucocorticoid-induced avascular osteonecrosis of the femoral head. *Joint Bone Spine*. Jan 2013;80(1):70-76.
129. Gillet C, Dalla Valle A, Gaspard N, et al. Osteonecrosis of the Femoral Head: Lipotoxicity Exacerbation in MSC and Modifications of the Bone Marrow Fluid. *Endocrinology*. Mar 1 2017;158(3):490-502.
130. Hao C, Yang S, Xu W, et al. MiR-708 promotes steroid-induced osteonecrosis of femoral head, suppresses osteogenic differentiation by targeting SMAD3. *Sci Rep*. Mar 2 2016;6:22599.
131. Yuan HF, Christina VR, Guo CA, Chu YW, Liu RH, Yan ZQ. Involvement of MicroRNA-210 Demethylation in Steroid-associated Osteonecrosis of the Femoral Head. *Sci Rep*. 2016;6:20046.
132. Sun J, Wang Y, Li Y, Zhao G. Downregulation of PPARgamma by miR-548d-5p suppresses the adipogenic differentiation of human bone marrow

- mesenchymal stem cells and enhances their osteogenic potential. *J Transl Med.* Jun 14 2014;12:168.
- 133.** Mao Q, Jin H, Liao F, Xiao L, Chen D, Tong P. The efficacy of targeted intraarterial delivery of concentrated autologous bone marrow containing mononuclear cells in the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a five year follow-up study. *Bone.* Dec 2013;57(2):509-516.
- 134.** Jin H, Xia B, Yu N, et al. The effects of autologous bone marrow mesenchymal stem cell arterial perfusion on vascular repair and angiogenesis in osteonecrosis of the femoral head in dogs. *Int Orthop.* Dec 2012;36(12):2589-2596.
- 135.** Li ZH, Liao W, Cui XL, et al. Intravenous transplantation of allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells and its directional migration to the necrotic femoral head. *Int J Med Sci.* 2011;8(1):74-83.
- 136.** Gianakos AL, Moya-Angeler J, Duggal S, et al. The Efficacy of Bisphosphonates with Core Decompression and Mesenchymal Stem Cells Compared with Bisphosphonates Alone in the Treatment of Osteonecrosis of the Hip: a Retrospective Study. *Hss j.* Jul 2016;12(2):137-144.
- 137.** Peng WX, Wang L. Adenovirus-Mediated Expression of BMP-2 and BFGF in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Combined with Demineralized Bone Matrix For Repair of Femoral Head Osteonecrosis in Beagle Dogs. *Cell Physiol Biochem.* 2017;43(4):1648-1662.
- 138.** Ma Y, Wang T, Liao J, et al. Efficacy of autologous bone marrow buffy coat grafting combined with core decompression in patients with avascular necrosis of femoral head: a prospective, double-blinded, randomized, controlled study. *Stem Cell Res Ther.* Oct 14 2014;5(5):115.
- 139.** Wen Q, Zhou C, Luo W, Zhou M, Ma L. Pro-osteogenic effects of fibrin glue in treatment of avascular necrosis of the femoral head in vivo by hepatocyte growth factor-transgenic mesenchymal stem cells. *J Transl Med.* May 7 2014;12:114.
- 140.** Song HJ, Lan BS, Cheng B, et al. Treatment of early avascular necrosis of femoral head by small intestinal submucosal matrix with peripheral blood stem cells. *Transplant Proc.* Jun 2011;43(5):2027-2032.

141. Badylak SF, Lantz GC, Coffey A, Geddes LA. Small intestinal submucosa as a large diameter vascular graft in the dog. *J Surg Res.* Jul 1989;47(1):74-80.
142. Sandusky GE, Jr., Badylak SF, Morff RJ, Johnson WD, Lantz G. Histologic findings after in vivo placement of small intestine submucosal vascular grafts and saphenous vein grafts in the carotid artery in dogs. *Am J Pathol.* Feb 1992;140(2):317-324.
143. Wang Y, Ma X, Chai W, Tian J. Multiscale Stem Cell Technologies for Osteonecrosis of the Femoral Head. *Stem Cells Int.* 2019;2019:8914569.
144. Maruyama M, Nabeshima A, Pan CC, et al. The effects of a functionally-graded scaffold and bone marrow-derived mononuclear cells on steroid-induced femoral head osteonecrosis. *Biomaterials.* Dec 2018;187:39-46.
145. Peng J, Wen C, Wang A, et al. Micro-CT-based bone ceramic scaffolding and its performance after seeding with mesenchymal stem cells for repair of load-bearing bone defect in canine femoral head. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* Feb 2011;96(2):316-325.
146. Kang P, Xie X, Tan Z, et al. Repairing defect and preventing collapse of femoral head in a steroid-induced osteonecrotic of femoral head animal model using strontium-doped calcium polyphosphate combined BM-MNCs. *J Mater Sci Mater Med.* Feb 2015;26(2):80.
147. Zhang HX, Zhang XP, Xiao GY, et al. In vitro and in vivo evaluation of calcium phosphate composite scaffolds containing BMP-VEGF loaded PLGA microspheres for the treatment of avascular necrosis of the femoral head. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* Mar 2016;60:298-307.
148. Till JE, Mc CE. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res.* Feb 1961;14:213-222.
149. Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol.* 1974;2(2):83-92.
150. Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, Muneta T. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum.* Aug 2005;52(8):2521-2529.

151. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-317.
152. Ji L, Bao L, Gu Z, et al. Comparison of immunomodulatory properties of exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells and dental pulp stem cells. *Immunol Res*. Aug 13 2019.
153. Galland S, Stamenkovic I. Mesenchymal stromal cells in cancer: A review of their immunomodulatory functions and dual effects on tumor progression. *J Pathol*. Oct 14 2019.
154. Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation*. Mar 1968;6(2):230-247.
155. Owen M, Friedenstein AJ. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp*. 1988;136:42-60.
156. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. Sep 1991;9(5):641-650.
157. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. Apr 2 1999;284(5411):143-147.
158. Wakitani S, Saito T, Caplan AI. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine. *Muscle Nerve*. Dec 1995;18(12):1417-1426.
159. Pereira RF, Halford KW, O'Hara MD, et al. Cultured adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, cartilage, and lung in irradiated mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. May 23 1995;92(11):4857-4861.
160. Sandhu JS, Clark BR, Boynton EL, et al. Human hematopoiesis in SCID mice implanted with human adult cancellous bone. *Blood*. Sep 15 1996;88(6):1973-1982.
161. Seshi B, Kumar S, King D. Multilineage gene expression in human bone marrow stromal cells as evidenced by single-cell microarray analysis. *Blood Cells Mol Dis*. Sep-Oct 2003;31(2):268-285.
162. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol*. Aug 2000;164(2):247-256.

163. Woodbury D, Reynolds K, Black IB. Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. *J Neurosci Res.* Sep 15 2002;69(6):908-917.
164. Togel F, Weiss K, Yang Y, Hu Z, Zhang P, Westenfelder C. Vasculotropic, paracrine actions of infused mesenchymal stem cells are important to the recovery from acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* May 2007;292(5):F1626-1635.
165. Block GJ, Ohkouchi S, Fung F, et al. Multipotent stromal cells are activated to reduce apoptosis in part by upregulation and secretion of stanniocalcin-1. *Stem Cells.* Mar 2009;27(3):670-681.
166. Martinet L, Fleury-Cappellesso S, Gadelorge M, et al. A regulatory cross-talk between Vgamma9Vdelta2 T lymphocytes and mesenchymal stem cells. *Eur J Immunol.* Mar 2009;39(3):752-762.
167. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood.* May 15 2002;99(10):3838-3843.
168. Suga H, Eto H, Shigeura T, et al. IFATS collection: Fibroblast growth factor-2-induced hepatocyte growth factor secretion by adipose-derived stromal cells inhibits postinjury fibrogenesis through a c-Jun N-terminal kinase-dependent mechanism. *Stem Cells.* Jan 2009;27(1):238-249.
169. Li L, Zhang S, Zhang Y, Yu B, Xu Y, Guan Z. Paracrine action mediate the antifibrotic effect of transplanted mesenchymal stem cells in a rat model of global heart failure. *Mol Biol Rep.* Apr 2009;36(4):725-731.
170. Ohab JJ, Fleming S, Blesch A, Carmichael ST. A neurovascular niche for neurogenesis after stroke. *J Neurosci.* Dec 13 2006;26(50):13007-13016.
171. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation.* Mar 30 2004;109(12):1543-1549.
172. Hung SC, Pochampally RR, Chen SC, Hsu SC, Prockop DJ. Angiogenic effects of human multipotent stromal cell conditioned medium activate the PI3K-Akt pathway in hypoxic endothelial cells to inhibit apoptosis, increase survival, and stimulate angiogenesis. *Stem Cells.* Sep 2007;25(9):2363-2370.

173. Masquelet AC, Fitoussi F, Begue T, Muller GP. [Reconstruction of the long bones by the induced membrane and spongy autograft]. *Ann Chir Plast Esthet.* Jun 2000;45(3):346-353.
174. Masquelet AC, Begue T. The concept of induced membrane for reconstruction of long bone defects. *Orthop Clin North Am.* Jan 2010;41(1):27-37; table of contents.
175. Henrich D, Seebach C, Nau C, et al. Establishment and characterization of the Masquelet induced membrane technique in a rat femur critical-sized defect model. *J Tissue Eng Regen Med.* Oct 2016;10(10):E382-e396.
176. Liao Y, Zhang XL, Li L, Shen FM, Zhong MK. Stem cell therapy for bone repair: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies with large animal models. *Br J Clin Pharmacol.* Oct 2014;78(4):718-726.
177. Bajada S, Harrison PE, Ashton BA, Cassar-Pullicino VN, Ashammakhi N, Richardson JB. Successful treatment of refractory tibial nonunion using calcium sulphate and bone marrow stromal cell implantation. *J Bone Joint Surg Br.* Oct 2007;89(10):1382-1386.
178. Giannotti S, Trombi L, Bottai V, et al. Use of autologous human mesenchymal stromal cell/fibrin clot constructs in upper limb non-unions: long-term assessment. *PLoS One.* 2013;8(8):e73893.
179. Grgurevic L, Macek B, Mercep M, et al. Bone morphogenetic protein (BMP)1-3 enhances bone repair. *Biochem Biophys Res Commun.* Apr 29 2011;408(1):25-31.
180. Sykova E, Homola A, Mazanec R, et al. Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury. *Cell Transplant.* 2006;15(8-9):675-687.
181. Zhou YJ, Liu JM, Wei SM, Zhang YH, Qu ZH, Chen SB. Propofol promotes spinal cord injury repair by bone marrow mesenchymal stem cell transplantation. *Neural Regen Res.* Aug 2015;10(8):1305-1311.
182. Vaquero J, Zurita M, Rico MA, et al. Intrathecal administration of autologous mesenchymal stromal cells for spinal cord injury: Safety and efficacy of the 100/3 guideline. *Cytotherapy.* Jun 2018;20(6):806-819.
183. Wakitani S, Imoto K, Yamamoto T, Saito M, Murata N, Yoneda M. Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell

- transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. *Osteoarthritis Cartilage*. Mar 2002;10(3):199-206.
- 184.** Murdoch AD, Hardingham TE, Eyre DR, Fernandes RJ. The development of a mature collagen network in cartilage from human bone marrow stem cells in Transwell culture. *Matrix Biol*. Mar 2016;50:16-26.
- 185.** Zhu S, Zhang B, Man C, Ma Y, Liu X, Hu J. Combined effects of connective tissue growth factor-modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells and NaOH-treated PLGA scaffolds on the repair of articular cartilage defect in rabbits. *Cell Transplant*. Apr 2014;23(6):715-727.
- 186.** Guo X, Zheng Q, Yang S, et al. Repair of full-thickness articular cartilage defects by cultured mesenchymal stem cells transfected with the transforming growth factor beta1 gene. *Biomed Mater*. Dec 2006;1(4):206-215.
- 187.** Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med*. Aug 26 2016;14(1):246.
- 188.** Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: long-term follow up of a multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med*. Jul 31 2018;16(1):213.
- 189.** Yokoya S, Mochizuki Y, Natsu K, Omae H, Nagata Y, Ochi M. Rotator cuff regeneration using a bioabsorbable material with bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rabbit model. *Am J Sports Med*. Jun 2012;40(6):1259-1268.
- 190.** Chen J, Altman GH, Karageorgiou V, et al. Human bone marrow stromal cell and ligament fibroblast responses on RGD-modified silk fibers. *J Biomed Mater Res A*. Nov 01 2003;67(2):559-570.
- 191.** Saether EE, Chamberlain CS, Leiferman EM, et al. Enhanced medial collateral ligament healing using mesenchymal stem cells: dosage effects on cellular response and cytokine profile. *Stem Cell Rev*. Feb 2014;10(1):86-96.

192. Hatsushika D, Muneta T, Nakamura T, et al. Repetitive allogeneic intraarticular injections of synovial mesenchymal stem cells promote meniscus regeneration in a porcine massive meniscus defect model. *Osteoarthritis Cartilage*. Jul 2014;22(7):941-950.
193. Vangsness CT, Jr., Farr J, 2nd, Boyd J, Dellaero DT, Mills CR, LeRoux-Williams M. Adult human mesenchymal stem cells delivered via intra-articular injection to the knee following partial medial meniscectomy: a randomized, double-blind, controlled study. *J Bone Joint Surg Am*. Jan 15 2014;96(2):90-98.
194. Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med*. Mar 1999;5(3):309-313.
195. Hernigou P, Beaujean F. Abnormalities in the bone marrow of the iliac crest in patients who have osteonecrosis secondary to corticosteroid therapy or alcohol abuse. *J Bone Joint Surg Am*. Jul 1997;79(7):1047-1053.
196. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells*. 2001;19(3):180-192.
197. Murphy MB, Moncivais K, Caplan AI. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Exp Mol Med*. Nov 15 2013;45:e54.
198. Hernigou P, Beaujean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Relat Res*. Dec 2002(405):14-23.
199. Gangji V, Hauzeur JP, Matos C, De Maertelaer V, Toungouz M, Lambermont M. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells. A pilot study. *J Bone Joint Surg Am*. Jun 2004;86-a(6):1153-1160.
200. Gangji V, Hauzeur JP. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells. Surgical technique. *J Bone Joint Surg Am*. Mar 2005;87 Suppl 1(Pt 1):106-112.
201. Rastogi S, Sankineani SR, Nag HL, et al. Intralesional autologous mesenchymal stem cells in management of osteonecrosis of femur: a preliminary study. *Musculoskelet Surg*. Dec 2013;97(3):223-228.

- 202.** Karakaplan M, Gulabi D, Topgul H, Elmali N. Does platelet-rich plasma have a favorable effect in the early stages of steroid-associated femoral head osteonecrosis in a rabbit model? *Eklem Hastalik Cerrahisi*. Aug 2017;28(2):107-113.
- 203.** Ibrahim V, Dowling H. Platelet-rich plasma as a nonsurgical treatment option for osteonecrosis. *Pm r*. Dec 2012;4(12):1015-1019.
- 204.** Stanko P, Kaiserova K, Altanero V, Altaner C. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from dental pulp, bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue by gene expression. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. Sep 2014;158(3):373-377.
- 205.** Hernigou P, Bernaudin F, Reinert P, Kuentz M, Vernant JP. Bone-marrow transplantation in sickle-cell disease. Effect on osteonecrosis: a case report with a four-year follow-up. *J Bone Joint Surg Am*. Nov 1997;79(11):1726-1730.
- 206.** Hernigou P BF. Autologous bone marrow grafting of avascular necrosis before collapse. *J Bone Joint Surg [Br]*. 1997;1997;79-B (Suppl II):148.
- 207.** Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. May 2006;24(5):1294-1301.
- 208.** Barda-Saad M, Rozenszajn LA, Ashush H, Shav-Tal Y, Ben Nun A, Zipori D. Adhesion molecules involved in the interactions between early T cells and mesenchymal bone marrow stromal cells. *Exp Hematol*. May 1999;27(5):834-844.
- 209.** Levesque JP, Takamatsu Y, Nilsson SK, Haylock DN, Simmons PJ. Vascular cell adhesion molecule-1 (CD106) is cleaved by neutrophil proteases in the bone marrow following hematopoietic progenitor cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood*. Sep 1 2001;98(5):1289-1297.
- 210.** Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol*. Apr 2000;109(1):235-242.
- 211.** Jin HJ, Bae YK, Kim M, et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *Int J Mol Sci*. Sep 3 2013;14(9):17986-18001.

212. Chang YJ, Shih DT, Tseng CP, Hsieh TB, Lee DC, Hwang SM. Disparate mesenchyme-lineage tendencies in mesenchymal stem cells from human bone marrow and umbilical cord blood. *Stem Cells*. Mar 2006;24(3):679-685.
213. Secunda R, Vennila R, Mohanashankar AM, Rajasundari M, Jeswanth S, Surendran R. Isolation, expansion and characterisation of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, umbilical cord blood and matrix: a comparative study. *Cytotechnology*. Oct 2015;67(5):793-807.
214. Li R, Lin QX, Liang XZ, et al. Stem cell therapy for treating osteonecrosis of the femoral head: From clinical applications to related basic research. *Stem Cell Res Ther*. Oct 25 2018;9(1):291.
215. Aoyama T, Goto K, Kakinoki R, et al. 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*. Aug 2014;20(4):233-242.
216. Pilge H, Bittersohl B, Schnependahl J, et al. Bone Marrow Aspirate Concentrate in Combination With Intravenous Iloprost Increases Bone Healing in Patients With Avascular Necrosis of the Femoral Head: A Matched Pair Analysis. *Orthop Rev (Pavia)*. Nov 17 2016;8(4):6902.
217. Gangji V, Toungouz M, Hauzeur JP. Stem cell therapy for osteonecrosis of the femoral head. *Expert Opin Biol Ther*. Apr 2005;5(4):437-442.
218. Sen RK, Tripathy SK, Aggarwal S, Marwaha N, Sharma RR, Khandelwal N. Early results of core decompression and autologous bone marrow mononuclear cells instillation in femoral head osteonecrosis: a randomized control study. *J Arthroplasty*. May 2012;27(5):679-686.
219. Wu ZY, Sun Q, Liu M, et al. Correlation between the efficacy of stem cell therapy for osteonecrosis of the femoral head and cell viability. *BMC Musculoskelet Disord*. Jan 29 2020;21(1):55.
220. Ohzono K, Saito M, Takaoka K, et al. Natural history of nontraumatic avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br*. Jan 1991;73(1):68-72.
221. Hernigou P, Poignard A, Zilber S, Rouard H. Cell therapy of hip osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Indian J Orthop*. Jan 2009;43(1):40-45.

- 222.** Yan ZQ, Chen YS, Li WJ, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head by percutaneous decompression and autologous bone marrow mononuclear cell infusion. *Chin J Traumatol.* Feb 2006;9(1):3-7.
- 223.** Tabatabaee RM, Saberi S, Parvizi J, Mortazavi SM, Farzan M. Combining Concentrated Autologous Bone Marrow Stem Cells Injection With Core Decompression Improves Outcome for Patients with Early-Stage Osteonecrosis of the Femoral Head: A Comparative Study. *J Arthroplasty.* Sep 2015;30(9 Suppl):11-15.
- 224.** Kang JS, Suh YJ, Moon KH, et al. Clinical efficiency of bone marrow mesenchymal stem cell implantation for osteonecrosis of the femoral head: a matched pair control study with simple core decompression. *Stem Cell Res Ther.* Oct 25 2018;9(1):274.
- 225.** Gangji V, De Maertelaer V, Hauzeur JP. Autologous bone marrow cell implantation in the treatment of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head: Five year follow-up of a prospective controlled study. *Bone.* Nov 2011;49(5):1005-1009.
- 226.** Hernigou P, Lambotte JC. Bilateral hip osteonecrosis: influence of hip size on outcome. *Ann Rheum Dis.* Oct 2000;59(10):817-821.
- 227.** Nally FJ, Zanotti G, Buttaro MA, et al. THA conversion rate comparing decompression alone, with autologous bone graft or stem cells in osteonecrosis. *Hip Int.* Mar 2018;28(2):189-193.
- 228.** Hernigou P, Dubory A, Homma Y, et al. Cell therapy versus simultaneous contralateral decompression in symptomatic corticosteroid osteonecrosis: a thirty year follow-up prospective randomized study of one hundred and twenty five adult patients. *Int Orthop.* Jul 2018;42(7):1639-1649.
- 229.** Piuze NS, Chahla J, Schrock JB, et al. Evidence for the Use of Cell-Based Therapy for the Treatment of Osteonecrosis of the Femoral Head: A Systematic Review of the Literature. *J Arthroplasty.* May 2017;32(5):1698-1708.
- 230.** Zhao D, Cui D, Wang B, et al. Treatment of early stage osteonecrosis of the femoral head with autologous implantation of bone marrow-derived and cultured mesenchymal stem cells. *Bone.* Jan 2012;50(1):325-330.

- 231.** Pepke W, Kasten P, Beckmann NA, Janicki P, Egermann M. Core Decompression and Autologous Bone Marrow Concentrate for Treatment of Femoral Head Osteonecrosis: A Randomized Prospective Study. *Orthop Rev (Pavia)*. Mar 21 2016;8(1):6162.

