

Eficacia clínica y ultrasonográfica de la terapia con células madre mesenquimales autólogas combinados con plasma rico en plaquetas y ozono médico en pacientes con osteoartritis de rodillas

Autores

Huanqui CE¹. Yafac JA². Rivas MO³, Manrique ZC³. Paucar KY⁴. Huichi T⁵, Valencia I⁵, Calle R⁵, Flores F⁵

Información del autor:

1. Médico Reumatólogo, docente de la Universidad Católica Santa María, jefe del Servicio de Reumatología del Hospital Regional Honorio Degado, cursos postgrado en terapia regenerativa celular.
2. Médico Reumatólogo, asistente del Servicio de Reumatología del Hospital Regional Honorio de Arequipa, especialista en ecografía músculo-esquelética.
3. Médico Hematólogo-Servicio de Hematología del Hospital Regional Honorio Delgado. Capacitación en Aspiración de Médula ósea.
4. Enfermera asistente del Hospital Regional Honorio Delgado de Arequipa. Cursos postgrado células madre: procesamiento de células madre, plasma rico en plaquetas.
5. Estudiantes de Medicina de la Universidad Católica Santa María, Capacitación en procesamiento y aislamiento de células madre, informática.

Resumen

Objetivo

Evaluar la Eficacia clínica y ultrasonográfica de la terapia con células madre mesenquimales (CMM) autólogas de médula ósea, combinado con plasma rico en plaquetas (PRP), y ozono médico (OM) en pacientes con osteoartritis de rodillas (OAR).

Métodos:

56 pacientes con edades comprendidos entre los 51 a 75 años, con diagnóstico de OAR grado II- III según escala de Kellgren-Lawrence, son evaluados clínica y ecográficamente, se establecen criterios de exclusión. Médico Hematólogo realiza el aspirado de médula ósea del hueso iliaco de los pacientes, se recolecta 2cc de concentrado de CMM luego de ser sometido a un procesamiento de ultracentrifugación. En un primer momento se obtienen 1 cc de la fracción correspondiente al PRP, los que se combinan con los 2 cc de las CMM para ser infiltrados intraarticularmente en las 2 rodillas, seguidamente se infiltra OM 3cc a 20 ugr/ml . Para la evaluación clínica se emplea el cuestionario WOMAC . Para la ecografía de rodillas, se utiliza un ecógrafo con transductor No 12, con escala de grises (Ecógrafo Mindray Z6) con la técnica propuesta por US EULAR, y es realizado por médico reumatólogo especialista en ecografía de partes blandas, quien al realizar las ecografías de un paciente determinado, no tiene conocimiento de su condición ecográfica previa, ambas evaluaciones clínica y ecográfica se realizan previo, y a los 12 meses del tratamiento.

Análisis estadístico: Para la comparación de los puntajes clínicos en la escala interválica de Womac, y para la valoración del cartílago articular basal y controles, se empleará la prueba T de Student para mediciones repetidas. Se considerará significativa una diferencia de $P < 0.05$.

Resultados: De los 56 pacientes 38 mujeres y 18 varones con edad promedio de 57^a, mostraron según Womac y medición del cartílago articular por ultrasonografía mejoras significativas tanto clínicas como del grosor del cartílago articular respectivamente a los 12 meses del tratamiento.

Conclusiones: El tratamiento de CMM mas PRP y OM en OAR de rodillas es un método efectivo clínica y ecográficamente, además de ser simple, seguro y de bajo costo.

Palabras Clave: osteoartritis de rodillas, células madre mesenquimales, plasma rico en plaquetas, ozonoterapia.

Clinical and ultrasonographic efficacy of autologous mesenchymal stem cell therapy combined with platelet-rich plasma , and medical ozone in patients with osteoarthritis of knees.

Summary

Objective

To evaluate the clinical and ultrasonographic efficacy of autologous mesenchymal stem cell (CMM) therapy with bone marrow, combined with platelet-rich plasma (PRP), and medical ozone (OM) in patients with osteoarthritis of the knees (OAR).

Methods

56 patients with diagnosis of OAR grade II-III, aged between 51 and 75 years, according to the Kellgren-Lawrence scale, are evaluated clinically and ultrasonographically, exclusion criteria are established. Medical Hematologist performs the bone marrow aspirate of the iliac bone of patients, 2cc of CMM concentrate is collected after being subjected to an ultracentrifugal processing. At first, 1 cc of the fraction corresponding to the PRP is obtained, which are combined with the 2 cc of the CMM to be infiltrated intra-articularly in the 2 knees, then OM 3cc infiltrates at 20 µg / ml. For the clinical evaluation the WOMAC questionnaire is used, scores are established in terms of mild-moderate-severe. For ultrasonography of knees, an ultrasound scanner with transducer No 12 is used, with gray scale (Ecografo Mindray Z6) with the technique proposed by US EULAR, and is performed by a rheumatologist specialist in soft tissue ultrasound, who when performing the ultrasound of a certain patient, is not aware of his previous sonographic condition, both evaluations are carried out previously, and 12 months after treatment.

Statistical analysis: For the comparison of the clinical scores in the Womac interval scale, and for the evaluation of the articular cartilage at baseline and controls, the Student's T test will be used for repeated measurements. A difference of $P < 0.05$ will be considered significant.

Results

Of the 56 patients, 38 women and 18 men with an average age of 57, showed, according to E. Womac and ultrasonography with measurement of articular cartilage, significant clinical improvements and the thickness of the joint cartilage, respectively, at 12 months after treatment.

Conclusions

The treatment of CMM plus PRP and OM in knee OAR, is an effective clinical and sonographic, besides being simple, safe and inexpensive.

Key words: knees osteoarthritis, mesenchymal stem cells, platelet rich plasma, ozone therapy

Introducción

La OAR de rodillas es una enfermedad degenerativa, crónica muchas veces invalidante diagnosticada según escala radiográfica de Kellgren-Lawrence (1), afecta a hombres y mujeres principalmente de la tercera edad (2, 3), Para la evaluación clínica se emplea el cuestionario WOMAC (4) y para lo cual los tratamientos empleados no son efectivos en lo que es regeneración del cartilago articular (5,6), la terapia con CMM con PRP y OM es una alternativa en investigación. Las CMM secretan varios factores angiogénicos y osteogénicos que pueden reparar tejidos (7), administradas en las rodillas se diferencian en condrocitos y expresan proteínas de la matriz extracelular como colágeno I y II, (8). Igualmente Horie and Mizuno reportan que las CMM administradas intrarticularmente se diferencian en condrocitos y regeneran el cartilago [9,10] El PRP contiene plaquetas que liberan una serie de Factores de Crecimiento que estimulan la producción del colágeno, la síntesis de ácido hialurónico y de matriz extracelular,

inhibiendo el desarrollo de la artrosis (11, 12, 13). El OM también ha demostrado tener efectos condroprotectores (14).

No existen estudios publicados que demuestren el efecto de las CMM potenciados con el PRP y OM sobre el cartílago articular.

Pacientes I Métodos: 56 pacientes con diagnóstico de OAR grado II- III según escala de Kellgren-Lawrence) (1) sobre la base de criterios de OA de rodilla de ACR (6), son atendidos en consulta privada y en consultorio reumatológico y en y en Hospital Regional de Arequipa, todos cumplen los criterios de inclusión y son evaluados clínica y ecográficamente, se evalúan deformidades angulares, previamente firman consentimiento informado. Los criterios de exclusión fueron: edad mayor de 75 años, cualquier causa de OAR secundaria, uso de corticosteroides sistémicos hasta 4 semanas antes de las inyecciones, y genu valgo / varo mayor de 20 grados. Médico Hematólogo realiza el aspirado de médula ósea del hueso iliaco de pacientes, se recolecta 2cc de concentrado de CMM de un total de 60cc del aspirado que se obtiene, luego de ser sometido a un procesamiento de ultracentrifugación durante 20 minutos a 5000 rpm. En un primer momento se obtienen 1 cc de la fracción correspondiente al PRP, los que se combinan con los 2 cc de las CMM y posteriormente el OM 3cc a 20ugr/ml son infiltrados intraarticularmente en las 2 rodillas. La evaluación clínica del dolor, rigidez y limitación funcional de las rodillas se realiza mediante el cuestionario WOMAC (2), se establecen puntuaciones para cada ítem (dolor, rigidez y capacidad funcional) las puntuaciones más altas implican peor estado del paciente,. La ecografía de rodillas es realizado por médico ecografista especialista en partes blandas, se utiliza un ecógrafo de partes blandas con transductor No 12, con escala de grises (Ecógrafo Mindray Z6) con la técnica propuesta por el grupo de estudio de US EULAR, que evalúa el grosor del cartílago articular en escala de mm. Ambas evaluaciones clínica y ecográfica se realizan previo y a los 12 meses del tratamiento, sin tener la ecografista conocimiento de la condición previa del paciente.

Análisis estadísticos: Para la comparación de los puntajes clínicos en la escala interválica de Womac, y para la valoración del cartílago articular al basal y controles, se empleará la prueba T de Student para mediciones repetidas. Se considerará significativa una diferencia de $P < 0.05$.

Resultados

38 mujeres y 18 varones con edad promedio de 57.40 ± 6.6 años; en su mayoría amas de casa, el tiempo de enfermedad promedio fue de 4.7 años, la media del IMC fue de 27.16 ± 2.14 kg/m² (tabla 1). La concentración de las CMM, PRP y del OM utilizados en el tratamiento se muestran en las tabla 2.

Los puntajes total WOMAC de los índices dolor, rigidez articular y función articular antes, y a los 12 meses del tratamiento fueron de 2613 y de 1,732 respectivamente, habiendo una diferencia de mejoría significativa ($P = 0.024$) (tabla 3). La cantidad de mejoría de los ítems clínicos tuvieron una asociación positiva con cada uno de las variables demográficas. La mejoría en todas las subcategorías WOMAC (dolor, rigidez y función articular) fueron significativas a los 12 meses de tratamiento.

La evaluación del grosor del cartílago según ecografía, mostró aumento significativo a los 12 meses del tratamiento. También se encontró una disminución de las irregularidades del cartílago articular, así como del engrosamiento sinovial (tablas 4 y 5).

No hubo reacciones adversas de consideración. 8 pacientes refirieron dolor posterior a la administración del tratamiento que cedieron con la administración de meloxicam vía IM.

Tabla 1

Características basales de los pacientes con osteoartritis de rodillas

VARIABLES	PACIENTES
Sexo	Masculino : 18 Femenino : 38
Edad (promedio)	57 ^a (51-75 ^a)
IMC	27.16 (19.8 - 35.4)
Grado de instrucción	Superior : 16 Secundario : 23

	Primario : 17
Tiempo de enfermedad	4.7ª (7m – 16ª)
Grado radiográfico de OAR	II grado : 17 III grado : 39

Tabla 2. Terapia con células madre utilizados en el tratamiento de pacientes osteoartritis de rodillas

Variabes	Concentración	No. Rodillas	No de sesiones	Intervalos de sesiones
Células madre mesenquimales	1 cc	2	1	Dosis única
PRP	2cc por cada rodilla	2	3	1 vez/semana
Ozono médico	20 mcg/ml por cada rodilla	2	3	1 vez/semanas

Tabla 3 .Evaluación Clínica C. WOMAC de tratamiento con células madre mesenquimales mas plasma rico en plaquetas y ozono médico en pacientes con osteoartritis de rodillas

WOMAC	Antes del tratamiento	A 12 meses del tratamiento	"t" de student
Puntuación global del dolor	680/840	460/840	
Puntuación global de la rigidez	223/336	172/336	
Puntuación global de la C. funcional	1710/2520	1100/2520	
Total global	2613/3696	1732/3696	0.024

Tabla 4. Determinación del grosor del cartílago articular de rodillas, según ecografía antes y a 12 meses del tratamiento con células madre mesenquimales mas plasma rico en plaquetas y ozonoterapia.

Rodilla	Lado	Grosor del cartílago en mm (media): basal	Grosor del cartílago en mm (media): al año de tratamiento
Rodilla Derecha	Interno	1,46	1,69
	Medio	1,76	2,04
	Externo	1,62	1,87
Rodilla Izquierda	Interno	1,43	1,77
	Medio	1,93	2,2
	Externo	1,72	1,92
Total de rodillas	2 3 lados	1.65*	1.91*

*T de student:0.03

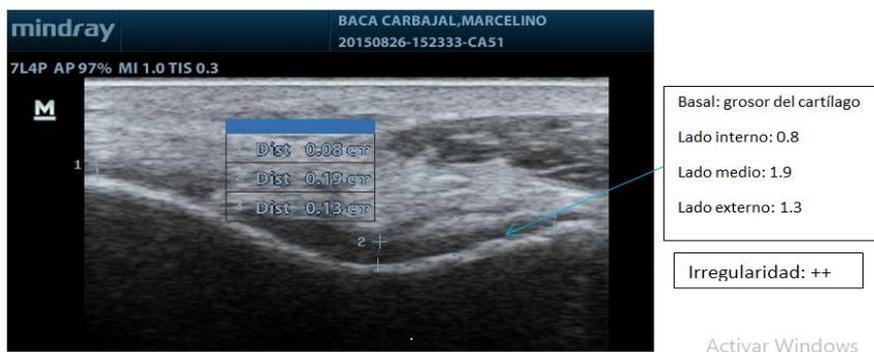
Tabla 5. Otros hallazgos ecográficos en rodillas antes y a 12 meses del tratamiento con células madre mesenquimales más plasma rico en plaquetas y con ozonoterapia.

Hallazgos ecográficos	Basal (Nro. de pacientes)	A 12 meses de tratamiento (Nro. de pacientes) (mejora ≥ 50%)
Irregularidades del cartílago	52: +++	52: ++
Osteofitos	51: ++	51: ++
Engrosamiento sinovial	22: ++	5: +

***: bastante

**.: regular

+: poco.



Comentarios

Las CMM se obtienen por aspiración de médula ósea de hueso iliaco, en un aproximado de 5 millones, más el PRP en un aproximado de 4 millones de plaquetas y el OM a 20 ug/ml. Para potenciar los resultados de la terapia intraarticular de rodillas con CMM, agregamos PRP y OM. Consideramos que el OM a través de su acción básicamente oxigenante, energizante, antioxidante, y el PRP por sus acciones de sus factores de crecimiento celular liberados de las plaquetas concentradas, tienen una acción complementaria a la de las CMM, habiéndose demostrado in vitro que el PRR potencia la acción de las CMM. Los estudios con PRP (15, 16, 17) y OM (18,14,19) en OAR son pocos, todos abiertos no randomizados, los que demuestran mejorías clínicas en periodos de tiempo cortos.

En nuestro estudio se demostró que hubo mejoría clínica significativa del dolor, rigidez y capacidad funcional de pacientes según C. Womac a los 12 meses del tratamiento.

En un estudio a 5 años de seguimiento Davatchi mostró excelentes efectos terapéuticos en OA de rodillas tratados con CMM (20).

Osiris Therapeutics Inc (21), reporta sobre ensayos de fase I / II incluyen resultados de siete instituciones en total 55 pacientes que recibieron inyecciones únicas de CMM a dosis de 50 millones o 150 millones de células en las 2 rodillas, 7-10 días después de meniscectomía. Todos los pacientes fueron seguidos durante 2 años. Aquellos que recibieron CMM experimentaron reducciones significativas en el dolor y reducción de la progresión de la OA. La esclerosis subcondral y la formación de osteofitos también se redujeron, en comparación con los controles con placebo. La RM reveló crecimiento del menisco, lo que sugiere que la progresión de la OA de la rodilla se había reducido.

Ma Yubo y col (22). Realizaron un metaanálisis de 11 pruebas clínicas randomizadas y controlados, que incluyeron 582 pacientes con OAR tratados con CMM, mostraron una significativa disminución en los scores Womac y Lequesne después de 12 meses de seguimiento ($P<0.01$), por score Tegner a 12 y 24 meses también demostraron resultados significativos ($P<0.05$), concluyendo ser clínicamente eficaces y seguros.

En nuestra evaluación según ecografía de rodillas, sobre el volumen del cartílago articular no podemos afirmar que el volumen ganado por el tratamiento sea del todo confiable, ya que la técnica de mayor confiabilidad es con la RMN con mapping y secuencias tridimensionales de gradiente (23), pero sí podemos afirmar que existe mejoría en cuanto a las irregularidades del cartílago y la hipertrofia sinovial. Existen evaluaciones objetivas del volumen y calidad del cartílago. Vangsness et al (21) reporta que el volumen de cartílago en los grupos de tratamiento con CMM mostró una disminución significativa, observada en la RM después de los 12 meses de seguimiento. Pero en otro ensayo, todos los pacientes con tratamiento con CMM mostraron signos de regeneración del cartílago en la RM después de los 12 meses de seguimiento (24). Vega et al (25) También informó de que la calidad del cartílago mejoró en los pacientes tratados con CMM, lo que sugiere que el tratamiento CMM es una terapia potencial para la OA de rodilla.

En relación al tratamiento de la OAR con las variables en estudio, el IMC fue el de mayor impacto negativo, al igual que los estudios de Kon y Filardo, encuentran que la mejoría clínica del tratamiento con PRP en OAR guarda relación inversa con el IMC y con el grado de severidad de la OAR (26, 27).

Conclusiones.- El tratamiento de CMM mas PRP y OM en OAR de rodillas es un método efectivo clínica y ecográficamente, además de ser simple, seguro y de bajo costo.

Revelaciones: no hay conflictos de interés reportados por los autores en el control del contenido de este artículo.

Consentimiento informado: autorización por paciente.

Referencias Bibliográficas

- 1.- Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assesment of osteoarthritis. Ann Rheum Dis. 1957;16:494-502.
- 2.- Suri P, Morgenroth DC, Hunter DJ. Epidemiology of osteoarthritis and associated comorbidities. PM&R 2012;4:S10–19.

- 3.- Lane NE, Brandt K, Hawker G. OARSI-FDA initiative: defining the disease state of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*.2011;19 (5):478–2.
- 4.- McConnell S, Kolopack P, Davis AM. The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC): a review of its utility and measurement properties. *Arthritis Rheum*. 2001;45(5):453-61..
- 5.- Hochberg MC. Proposed 2012 American College of Rheumatology recommendations for the use of non-pharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip and knee. *Arthritis Care Res*. 2012;64(4):465-74.
- 6.- Misso ML, Pitt VJ, Jones KM, Barnes HN, Piterman L, Green SE. Quality and consistency of clinical practice guidelines for diagnosis and management of osteoarthritis of the hip and knee: a descriptive overview of published guidelines. *Med J Aust*. 2008;189(7):394-9.
- 7.- Muneta T, Koga H, Mochizuki T, Suzuki K, Makino H, Umezawa A, et al. Increased proliferation of human synovial mesenchymal stem cells with autologous human serum: Comparisons with bone marrow mesenchymal stem cells and with fetal bovine serum. *Arthritis Rheum*. 2008;58(2):501-10.
- 8.- 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*. 2014;96(2):90-8.
- 9.- Horie M, Sekiya I, Muneta T, Ichinose S, Matsumoto K, Saito H, et al. Intra-articular Injected synovial stem cells differentiate into meniscal cells directly and promote meniscal regeneration without mobilization to distant organs in rat massive meniscal defect. *Stem Cells*. 2009;27(4):878-87.
- 10.- Mizuno K, Muneta T, Morito T, Ichinose S, Koga H, Nimura A, et al. Exogenous synovial stem cells adhere to defect of meniscus and differentiate into cartilage cells. *J Med Dent Sci*. 2008;55(1):101-11.
- 11.- Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zaldeundo Ma. Platelet released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patient rheumatology.*Rheumatology(Oxford)*.2007;46(12):1769-72.
- 12.- Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Aguirre JJ, Andia I. Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of the knee OA A retrospective study. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(5):910-3.
- 13.- Gaissmaier C, Koh JL, Weise K. Growth and differentiation factors for cartilage healing and repair. *Injury*. 2008;39(1):S88-96.
- 14.- Riva-Sanseverino E. Knee-joint disorders treated by oxygenozone therapy. *Europa Medicophysica*. 1989;25(3):163-170.
- 15.- Chang KV, Hung CY, Aliwarga F, Wang TG, Han DS, Chen WS. Comparative effectiveness of platelet-rich plasma injections for treating knee joint cartilage degenerative pathology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Phys Med Rehabil*. 2014;95(3):562-75.
- 16.- Dold AP1, Zywiell MG, Taylor DW, Dwyer T, Theodoropoulos J. Platelet-rich plasma in the management of articular cartilage pathology: a systematic review. *Clin J Sport Med*. 2014;24(1):31-43.
- 17.- Kon E, Mandelbaum B, Buda R. Platelet-rich plasma intra-articular injection versus hyaluronic acid viscosupplementation as treatments for cartilage pathology: from early degeneration to osteoarthritis. *Arthroscopy*. 2011;27(11):1490-501.
- 18.- Huanqui C. Eficacia y seguridad del ozono intrarticular en el tratamiento de la artrosis refractaria la tratamiento convencional. *Rev Perú Reum*. 2006 ;12:21-26.
- 19.- Milanés JR, Acosta W, Trinchet E. La ozonoterapia/resultados del tratamiento en pacientes con artrosis degenerativa sintomática de rodilla. *Dol Clin Ter* 2009; 6(IV): 18-24.
- 20.-Davatchi F, Sadeghi Abdollahi B, Mohyeddin M, Nikbin B. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis: 5 years follow-up of three patients. *Int J Rheum Dis*. 2016;19(3):219-25
- 21.- Vangsness CT, Farr J, 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*. 2014;15;96(2):90-8

- 22.- Yubo M, Yanyan L, Li L, Tao S, Bo L, Lin C. Clinical efficacy and safety of mesenchymal stem cell transplantation for osteoarthritis treatment: A meta-analysis. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175449.
- 23.- Cano A, Gomez L, Morales P. Assessment of joint cartilage using image diagnostic techniques. *Rev. S. And. Traum. y Ort.* 2013; 30 (2/2): 41-56.
- 24.- Saw KY1, Anz A, Siew-Yoke Jee C, Merican S, Ching-Soong Ng R, Roohi SA, et al. Articular cartilage regeneration with autologous peripheral blood stem cells versus hyaluronic acid: a randomized controlled trial. *Arthroscopy*. 2013;29(4):684-94.
- 25.-Vega A, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, Alberca M, García V, Munar A, et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation*. 2015;99(8):1681-90.
- 26.- Filardo G, Kon E, Buda R. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011;19(4):528-35
- 27.- Kon E, Buda R, Filardo G. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010;18(4):472-9.