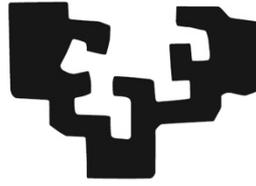


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Tesis doctoral

Departamento de FISIOLÓGÍA

Programa de Doctorado de Investigación Biomédica

PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN LA
ARTROSIS SEVERA DE CADERA:
ACCIÓN BIOLÓGICA Y PERSPECTIVAS
TERAPÉUTICAS

Nicolás Fiz Sánchez

Director: Luis Casis Saenz

Codirector: Jon Torres Unda

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	6
RESUMEN.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	14
LISTA DE TABLAS.....	16
SECCIÓN I	
1. INTRODUCCIÓN.....	20
• Comprendiendo la articulación como un órgano: el proceso de degeneración articular.....	23
• Proceso de degeneración articular.....	25
• Definición de PRP.....	30
• Clasificación del PRP.....	31
• Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF).....	32
• PRGF y degeneración articular.....	33
1.1..1 Efecto anti-inflamatorio.	
1.1..2 Efecto analgésico	
1.1..3 Efecto biolubricante	
1.1..4 Efecto modulador celular	
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	38
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	42

3.1 Estudio 1: Infiltración Intrósea de Plasma Rico en Plaquetas para la Artrosis Severa de Cadera.....	44
3.1.1 Técnica de infiltración.....	44
3.1.1.1 Diagnóstico	
3.1.1.2 Preparación del PRP	
3.1.1.3 Preparación del paciente	
3.1.1.4 Infiltración intraarticular	
3.1.1.5 Infiltración acetabular intraósea	
3.1.1.6 Infiltración femoral intraósea	
3.1.2 Resultados Clínicos: Estudio piloto.....	47
3.1.2.1 Pacientes	
3.1.2.2 Preparación del PRP	
3.1.2.3 Tratamiento	
3.1.2.4 Evaluación de resultados	
3.1.2.5 Análisis estadístico	
3.2 Estudio 2: Efecto de las infiltraciones intraóseas e intraarticulares combinadas de plasma autólogo rico en plaquetas sobre células estromales mesenquimales de médula ósea subcondral de pacientes con artrosis de cadera.....	51
3.2.1 Pacientes	
3.2.2 Preparación del PRP y Procedimiento de administración	
3.2.3 Procesamiento de muestras de aspirado de médula ósea y establecimiento de cultivos de MSC	
3.2.4 Ensayo de unidades formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F) y análisis de colonias.	
3.2.5 Ensayo de senescencia	
3.2.6 Expresión génica	
3.2.7 Análisis estadístico	

4. RESULTADOS.....	58
4.1 Estudio 1: Infiltración Intrósea de Plasma Rico en Plaquetas para la Artrosis Severa de Cadera	60
4.1.1 Resultados a corto plazo	
4.1.2 Resultados a largo plazo	
4.1.3 Seguridad	
4.2 Estudio 2: Efecto de las infiltraciones intraóseas e intraarticulares combinadas de plasma autólogo rico en plaquetas sobre células estromales mesenquimales de médula ósea subcondral de pacientes con artrosis de cadera.....	63
4.2.1 Características de los pacientes y respuesta al tratamiento	
4.2.2 Caracterización del plasma rico en plaquetas	
4.2.3 Números y características de las colonias	
4.2.4 Expresión del marcador de multipotencialidad de las MSC y proporción de células senescentes	
4.2.5 Cambios en las MSCs en relación con la respuesta al tratamiento	
5. DISCUSIÓN.....	70
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
SECCIÓN II	
7. CONCLUSIONES.....	96

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo expresar mi agradecimiento al director de esta tesis doctoral, Dr. Luis Casis, quien ha conseguido que este proyecto llegue a término. Sin tu perseverancia y sin tu estímulo para que continuase jamás lo habría conseguido. Así mismo deseo agradecer al Dr. Jon Torres, codirector de esta tesis, su “último” empujón para completarla.

También deseo agradecer y recordar al profesor Juan José Goiriena, quien se preocupó con cariño de que esta tesis pudiese comenzar, aunque no esté ya con nosotros para ver el resultado.

Al Dr. Sabino Padilla, por su ayuda y entusiasmo. Siempre en un honor compartir ideas contigo y te agradezco de corazón tu ayuda.

Al Dr. Mikel Sánchez, de quien tanto he aprendido y aprendo cada día. Gracias por todo lo que me has enseñado.

A mis compañeros de la UCA y al departamento de I+D, en especial al Dr. Diego Delgado, por su ayuda en este trabajo y en tantos otros.

A mis pacientes, que me mueven a intentar ser mejor médico cada día.

A mis padres, José Luis y Pilar. Para mí sois el ejemplo de la vocación médica. Gracias por transmitírmelo y gracias por todos vuestros esfuerzos y dedicación. Habéis sido y sois aún mis referentes.

A mis hijos Leire, Iñigo y María, mis pequeños regalos de Dios.

Y en especial gracias a mi mujer Ane. Sin tu ayuda esto no habría sido posible. Gracias por estar a mi lado en cada paso de mi vida.

RESUMEN

La artrosis de cadera es una enfermedad inflamatoria de bajo grado, altamente prevalente en la población mundial. Constituye una importante causa de limitación de la calidad de vida del paciente y supone un importante gasto en los sistemas sociosanitarios. Hasta hace pocos años, los tratamientos conservadores de esta enfermedad se limitaban al tratamiento de los síntomas asociados. En los últimos años, la aparición de tratamientos biológicos, entre los que se encuentran las infiltraciones con plasma rico en plaquetas (PRP), supone un avance terapéutico que pone el foco en modificar el curso de la enfermedad. Hasta ahora, se había demostrado la eficacia de estos tratamientos en el control de los síntomas al inyectarse de forma intrarticular. La artrosis es una enfermedad compleja, que involucra a todos los tejidos articulares. Entre ellos, el hueso subcondral juega un papel fundamental en la regulación de la homeostasis articular y del cartílago. Así mismo es un reservorio fundamental de células mesenquimales estromales (MSC), con una función inmunomoduladora clave en los procesos de homeostasis de la articulación. La afectación de este hueso subcondral, con la consecuente alteración de las células mesenquimales presentes en él, ha puesto el foco en el desarrollo de nuevas terapias que permitan un tratamiento más completo de la enfermedad, entre las que se encuentran las infiltraciones con PRP intraóseo. Estos tratamientos ya han demostrado su eficacia en la artrosis de rodilla, con resultados superiores a los obtenidos con tratamientos únicamente intraarticulares.

En este trabajo se describe por primera vez la técnica de infiltración de PRP intraóseo en la articulación de la cadera, demostrando que es una técnica segura y reproducible. Así mismo, se muestran los resultados clínicos de un estudio piloto sobre pacientes con artrosis severa de cadera tratados con PRP intraóseo, que demuestra la superioridad de este tratamiento comparado con las infiltraciones intraarticulares. Por último, se ha estudiado por primera vez en humanos, el efecto que el PRP intraóseo tiene en las MSCs del hueso subcondral en su propio nicho celular, hallando un efecto positivo de este tratamiento en lo que se refiere a proliferación celular, resistencia a la

senescencia y expresión de genes asociados con la formación ósea y la remodelación del cartílago.

LISTADO DE ABREVIATURAS

ADL	Function in daily living (Función en la vida diaria)
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ADNc	ADN complementario
AP	anteroposterior
Arg-1	Arginasa 1
ARN	Ácido ribonucleico
B-cell	Linfocito B
BDGF	Factor de crecimiento derivado del hueso
BMA	Aspirado de médula ósea
Ca Cl ₂	Cloruro cálcico
CB1	Receptor cannabinoides 1
CB2	Receptor cannabinoides 2
CFU-F	Unidades formadoras de colonias de fibroblastos
DAMPs	Patrones Moleculares Asociados al Daño Tisular
DE	Desviación estándar
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
EVA	Escala Visula Analógica
FCS	Suero bovino fetal
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
GAGs	Glicosaminoglicanos
HGF	Factor de crecimiento hepático
HOOS	Hip Disability and Osteoarthritis Outcome
HS	Suero humano
IA	Intraarticular
iCOX2	Inhibidores de la ciclooxigenasa 2
IGF	Factor de crecimiento insulínico
IL-1	Interleuquina 1
IL-10	Interleuquina 10

IL-12	Interleuquina 12
IL-3	Interleuquina 3
IL-4	Interleuquina 4
IL-5	Interleuquina 5
IL-6	Interleuquina 6
INF- γ	Interferon gamma
iNOS	Oxido Nitrico Sintasa
IO	Intraóseo
LI-2	Interleuquina 2
M1M ϕ	Macrofago proinflamatorio
M2M ϕ	Macrófago trófico
MCII	Mejoría mínima clínicamente importante
MEC	Matriz extracelular
MMPs	Metaloproteasas
MSC	Células Madre Mesenquimales
MSC1	Celula madre mesenquimas inflamatoria
MSC2	Celula madre mesenquimal trófica
N-CAM	Molécula de adhesión celular N
NF- $\kappa\beta$	Nuclear Factor kappa-Beta
NGF	Factor de crecimiento nervioso

NrF2-ARE	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2-antioxidant responsive
OA	Osteoartrosis
P1	Primer pase
PBS	Tampón fosfato salino
PCR	PCR cuantitativa en tiempo real
PDGF	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
PGE-2	Prostaglandina E2
Post-MSC	MSC postratamiento
Pre-MSC	MSC pretratamiento
PRGF	Plasma Rico en Factores de crecimiento
PRP	Plasma Rico en Plaquetas
QOL	Calidad de vida
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SA- β -gal	Beta-galactosidasa asociado a senescencia
Sport/Rec	Deportes y recreación
SZP	Proteína de la Zona Superficial
T-cell	Linfocito T
Tc	T citotóxico
TGF- β	Factor de Crecimiento transformante beta
TH	T helper
TLR	Toll-like receptor
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
Tregs	T-reguladores
VAS	Escala visual analógica
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
WOMAC	Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1: la articulación como órgano.

Figura 2: representación del crecimiento de tejido fibrovascular y del aumento de los canales de comunicación entre el hueso subcondral y el cartílago.

Figura 3: el intercambio de células y moléculas inflamatorias desde el hueso subcondral a la superficie articular activará vías inflamatorias en toda la articulación.

Figura 4: el microambiente de la articulación determinará la polarización de los diferentes tipos celulares hacia su fenotipo inflamatorio o hacia el tráfico o reparador. Esto podrá conducir a la degeneración articular o mantener la homeostasis fisiológica.

Figura 5: representación del bucle catabólico articular. Todos los tejidos de la articulación están implicados en el proceso degenerativo; la lesión en cada tejido perpetúa el proceso de lesión tisular global que acontece en la OA.

Figura 6: esquema del procedimiento de infiltración intraósea a nivel de la articulación de la cadera.

Figura 7: posicionamiento del trócar de infiltración a nivel acetabular (imagen de fluoroscopia intraoperatoria).

Figura 8: posicionamiento del trócar de infiltración a nivel de la cabeza femoral (imagen intraoperatoria de fluoroscopia); **B:** imagen de la difusión del PRP intraósea a nivel de la cabeza femoral obtenida tras la aplicación de 5 ml de PRP teñido con azul de metileno e infiltrado en una cabeza femoral de donante según la técnica descrita.

Figura 9: Puntuación HOOS al inicio, dos meses, seis meses y doce meses después del tratamiento.

Figura 10: Capacidad de formación de colonias en MSC p1 antes (Pre) y 2 semanas después (Post) de las infiltraciones de PRP IO.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1: Datos demográficos (Estudio 1)

Tabla 2: Evolución de los pacientes en el tiempo (Estudio 1)

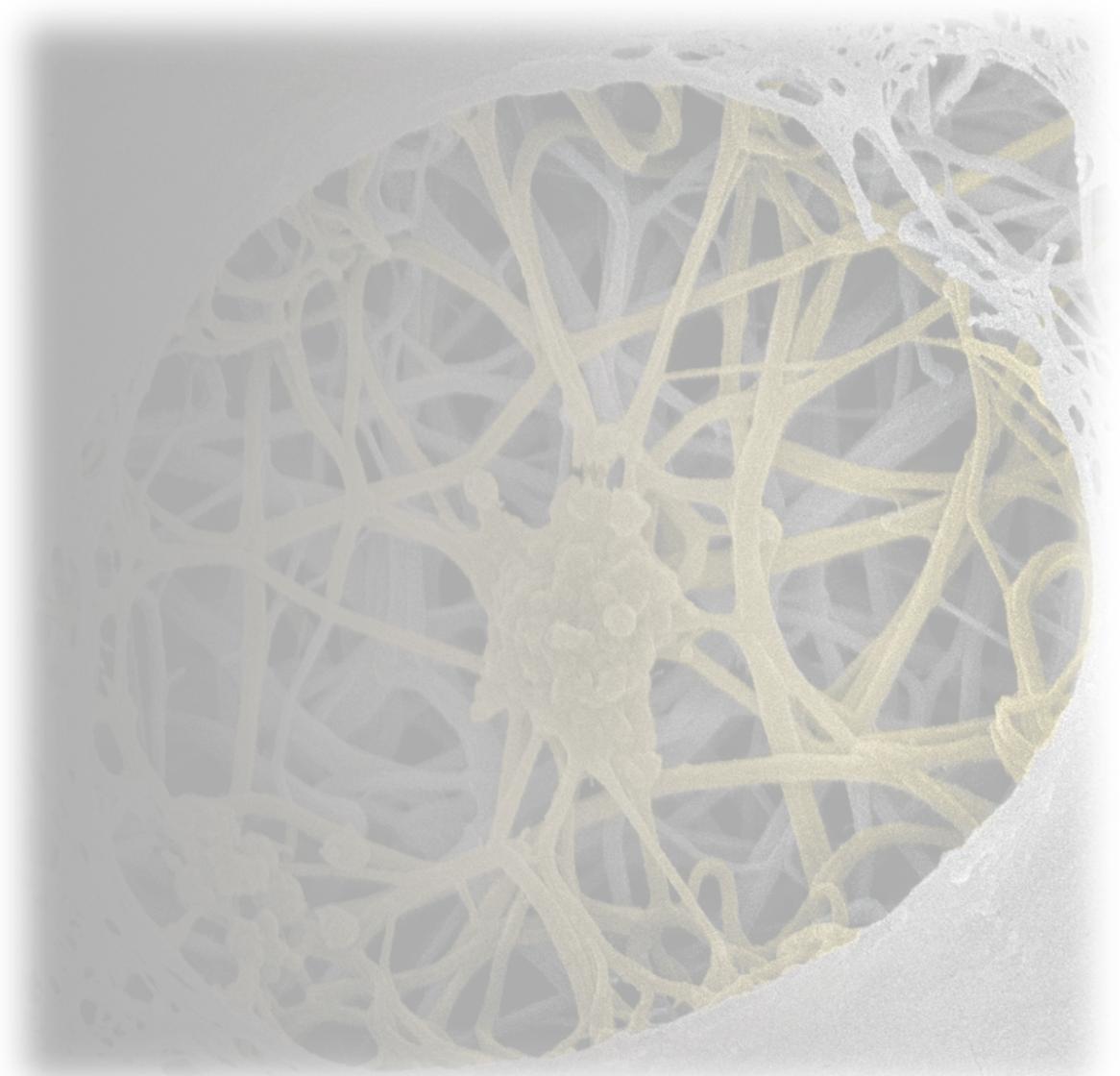
Tabla 3: Datos demográficos de los pacientes y evaluación clínica previa y posterior al tratamiento (Estudio 2)

Tabla 4: Preparación, caracterización y características de aplicación del PRP (Estudio 2)

Tabla 5: Lista de los genes con valores medianos y diferencia de veces entre las muestras previas y posteriores en los respondedores y no respondedores (Estudio 2)

SECCIÓN I

SECCIÓN I



1. INTRODUCCIÓN

SECCIÓN I

La osteoartrosis (OA) es una enfermedad del sistema musculoesquelético que se ha convertido en objeto de interés de los sistemas de salud en todo el mundo por su alta prevalencia. Aproximadamente el 40% de la población >65 años podría desarrollar síntomas artrósicos, y la cadera es una de las articulaciones comúnmente afectadas, con una prevalencia del 7 al 25% en pacientes mayores de 55 años¹. Los síntomas de la artrosis de cadera normalmente incluyen dolor y pérdida de función, reduciendo la calidad de vida del paciente. Además, el aumento de la esperanza de vida y de las tasas de obesidad podrían elevar la prevalencia de esta patología. Actualmente no existe un tratamiento eficaz que detenga la progresión de la OA, que conduce al reemplazo articular y genera un riesgo para los pacientes y una gran carga económica para los sistemas de salud².

Los tratamientos actuales como la fisioterapia, los analgésicos y antiinflamatorios orales o las inyecciones intraarticulares de ácido hialurónico y esteroides solo se centran en aliviar los síntomas de la OA, pero no erradican la causa de la enfermedad³. Aunque estos métodos son capaces de aliviar los síntomas, la degeneración sigue progresando y la artroplastia parece ser la única solución en el horizonte de estos pacientes⁴. Esta alternativa puede causar complicaciones y, debido a su vida útil limitada, en ocasiones es necesario realizar nuevas intervenciones quirúrgicas más difíciles en el futuro. Por tanto, es necesario desarrollar nuevos tratamientos que frenen la progresión de la degeneración articular provocada por la OA. En los últimos años han surgido tratamientos basados en la medicina regenerativa, como las Células Madre Mesenquimales (MSC) y el Plasma Rico en Plaquetas (PRP), con el fin de ralentizar en lo posible la evolución de la OA y regenerar el cartílago. Aunque estas nuevas técnicas no han podido cumplir completamente con los objetivos propuestos, se han logrado avances prometedores en los últimos años⁵. El PRP surge como una terapia biológica alternativa e innovadora, con el objetivo no sólo de controlar la sintomatología, sino también de modificar el curso de la enfermedad. Esta terapia autóloga, basada en el potencial regenerativo de las plaquetas, las biomoléculas plasmáticas y la matriz de fibrina, se ha desarrollado con el fin de mejorar la capacidad regenerativa natural de los tejidos dañados.^{6,7}

1.1 Comprendiendo la articulación como un órgano: el proceso de degeneración articular.

Las articulaciones sinoviales están formadas por múltiples tejidos, con propiedades biomecánicas específicas, lo que hace que cada uno de ellos realice funciones específicas. Pero todos ellos actúan de forma coordinada para mantener la homeostasis bioquímica y biomecánica articular. Esto confiere a la articulación sinovial una enorme capacidad adaptativa frente a los desórdenes mecánicos y biológicos a los que se encuentra permanente sometida la articulación⁸. Los músculos periarticulares, la cápsula, los ligamentos y el labrum articular confieren a la articulación estabilidad, así como son un elemento fundamental en la absorción de cargas⁹⁻¹³.

A nivel intraarticular, existen tres elementos fundamentales para mantener la homeostasis articular: la membrana sinovial, el cartílago y el hueso subcondral (Figura 1). La membrana sinovial es un tejido altamente vascularizado e innervado y proporciona nutrientes al cartílago avascular adyacente. Su tipo celular principal son los sinoviocitos (tipo A -macrófagos- y tipo B -fibroblastos-), aunque también presenta células inmunes y MSC, hasta el punto de que la membrana sinovial se ha convertido en una fuente de MSC de creciente interés¹⁴. La membrana sinovial es la productora del líquido sinovial; éste actúa como lubricante articular (por su alto contenido en lubricina y ácido hialurónico) y es el portador de nutrientes, biomoléculas y señales celulares, siendo por lo tanto fundamental en el mantenimiento de la homeostasis articular¹⁵. El segundo elemento es el cartílago articular hialino. Lo forman condrocitos organizados en una matriz de colágeno tipo 2. Presenta un coeficiente de fricción muy bajo, con una elevada resistencia a la compresión y el cizallamiento. Sus condrocitos se estratifican de menor a mayor densidad celular desde las capas más superficiales a las capas profundas, adyacentes al hueso subcondral, donde la concentración de agua y células es mayor¹⁶. El tercer elemento con un papel predominante en el mantenimiento biológico de la articulación es el hueso subcondral. Consiste en una placa de hueso cortical de donde emergen áreas de médula ósea y hueso trabecular. La importancia del hueso subcondral radica en su comunicación con el cartílago, aportando a este tejido al menos el 50% de los requerimientos de oxígeno y glucosa. Esta comunicación no se limita al aporte nutricional sino que abarca la señalización celular y molecular que

participa en la homeostasis del cartílago. Además, el hueso subcondral es una fuente de MSC y participa en la absorción de cargas articulares junto con los otros elementos mencionados anteriormente¹⁷.

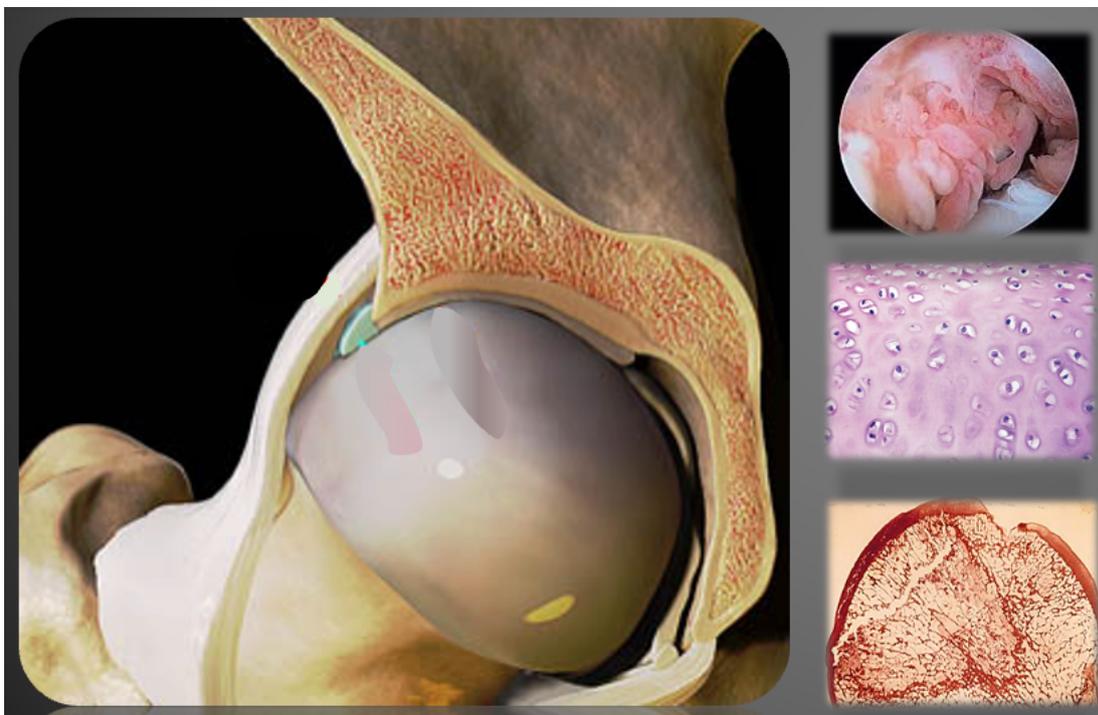


Figura 1: la articulación como órgano, donde la membrana sinovial, el cartílago y el hueso subcondral constituyen los principales componentes a nivel intraarticular

Todas las estructuras descritas anteriormente confieren a la articulación capacidad de adaptación a las diferentes alteraciones y estímulos recibidos, ayudando a mantener un cartílago sano. Y esta adaptación es tanto mecánica como biológica, siendo en este último aspecto donde la medicina regenerativa tiene su marco de acción. Gracias a los “estabilizadores mecánicos” de la articulación, las cargas y fuerzas mecánicas que recibe se convierten en estímulos moleculares y celulares que se mantienen en niveles fisiológicos, siempre y cuando las cargas sean moderados en intensidad y frecuencia. Estos estímulos activan la expresión génica de los condrocitos, permitiéndoles sintetizar proteínas, como proteoglicanos, colágeno y metaloproteasas, que aseguran la integridad y renovación del cartílago articular¹⁸. La continua adaptación de las células a los estímulos mecánicos que reciben para mantener la matriz extracelular adecuada se basa en un equilibrio anabólico/catabólico muy delicado, y cualquier alteración mecánica o biológica puede romperlo dando lugar a una degeneración articular¹⁹.

1.2 Proceso de degeneración articular

El equilibrio articular puede verse alterado por múltiples causas. Lesiones en los elementos estabilizadores de la articulación, un exceso de estímulos en relación con actividad física suprafisiológica o un defecto de los mismos en relación con el sedentarismo conducirán a un mal funcionamiento biológico y celular. En consecuencia, se alterarán los mecanismos de renovación tisular²⁰. Así mismo, otras patologías y trastornos biológicos como el envejecimiento o como los procesos inflamatorios o los que afectan a las estructuras encargadas de mantener y nutrir el cartílago también pueden provocar fallos celulares que conduzcan al desequilibrio y la degeneración articular. Tradicionalmente, se ha entendido la OA como una enfermedad no inflamatoria. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que existe un tipo de inflamación crónica de bajo grado en la patogénesis de la OA, que lleva a una ineficacia en los mecanismos de reparación tisular²¹⁻²³. Tenemos que evitar tener una visión mecanicista del problema y entender los mecanismos celulares implicados en el desarrollo de la OA²⁴. De esta forma podremos desarrollar y aplicar tratamientos más eficaces.

Los múltiples tejidos implicados en este problema y la naturaleza multifactorial de la OA hacen difícil precisar la secuencia de pasos y el momento en el que se produce cada uno de ellos durante el desarrollo de la OA. Lo que sí queda claro es que estos eventos ocurren principalmente en la membrana sinovial, el cartílago y, de forma particularmente importante, en el hueso subcondral²⁵. Más allá de la causa, la consecuencia principal del desequilibrio articular es la degeneración de la matriz extracelular y la generación de productos de degradación de la misma, que serán liberados al líquido articular²⁶. Estos productos de degradación generarán patrones moleculares asociados al daño tisular (DAMPs), capaces de unirse a receptores TLR en las células de los diferentes tejidos articulares²⁷. Como consecuencia de estas interacciones, se activa la vía intracelular del factor nuclear kappa β (NF- κ B), conectando el programa mecanobiológico y la respuesta inflamatoria. La expresión génica de las células afectadas cambia a un patrón inflamatorio que sintetiza moléculas, a saber, interleuquinas (IL-1b, IL-6, IL10), prostaglandinas (PGE-2) y otras biomoléculas proinflamatorias, y citoquinas (factor de necrosis tumoral alfa

(TNF α), interferón gamma (INF- γ) o factor de crecimiento nervioso (NGF)). Los niveles patológicos de estas moléculas también interfieren en las respuestas de reparación fisiológica. Por ejemplo, la acción de las MSC de la médula ósea se ve alterada por los altos niveles del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), lo que compromete sus funciones de modulación y reparación²⁸. Todo el ambiente biológico dañino generado por esta cascada de eventos provoca cambios patológicos en el cartílago, la membrana sinovial y el hueso subcondral. Los condrocitos del cartílago pasan a un estado mucho más activo, formando grupos de células y aumentando su proliferación. También aumentan la síntesis tanto de proteínas de la matriz extracelular como de enzimas, provocando un remodelado alterado de la matriz con hipertrofia y calcificaciones¹⁹. En cuanto a la membrana sinovial, en las primeras etapas se produce un proceso inflamatorio con infiltrados de macrófagos, que en etapas avanzadas generará una hipertrofia inflamatoria crónica de la membrana sinovial (sinovitis)²⁹. A nivel del hueso subcondral se generarán lesiones óseas como edema óseo y microfracturas, que llevarán a una descompensación en las cargas, lo que producirá un estímulo patológico tanto bioquímico como biomecánico³. Nuevamente, los DAMPs activarán vías inflamatorias intracelulares (tales como NF-KB y otras...) que aumentará la producción de citoquinas y por lo tanto el ambiente inflamatorio. Esto generará un desajuste a nivel molecular, celular y tisular, que llevará a una remodelación tisular con contenido fibroneuroangiogénico por la sobreexpresión de moléculas como TGF- β y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)²⁷. Estas lesiones aumentarán los canales de comunicación entre el cartílago y el hueso subcondral³⁰. De esta forma se permitirá el intercambio molecular y celular entre el cartílago y el hueso subcondral (figura 2).

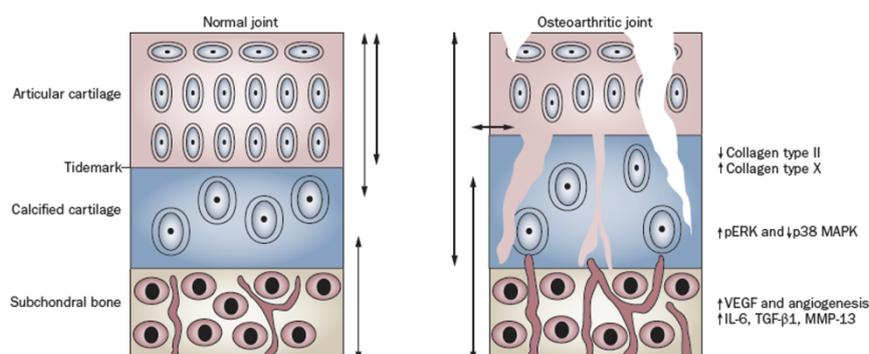


Figura 2: representación del crecimiento de tejido fibroneurovascular y del aumento de los canales de comunicación entre el hueso subcondral y el cartílago

Cuando estos productos alcancen la membrana sinovial, se unirán a receptores de membrana celular y perpetuarán el ciclo inflamatorio anteriormente descrito (figura 3). Así se perpetúa un bucle catabólico sostenido que llevará a la degeneración articular²⁸. Teniendo en cuenta todo esto, es evidente que la degeneración articular no es una enfermedad exclusiva del cartílago. En cambio, afecta a todos los elementos presentes en la articulación, por lo que debe abordarse clínicamente teniendo en cuenta todos ellos para revertir o ralentizar la progresión degenerativa.

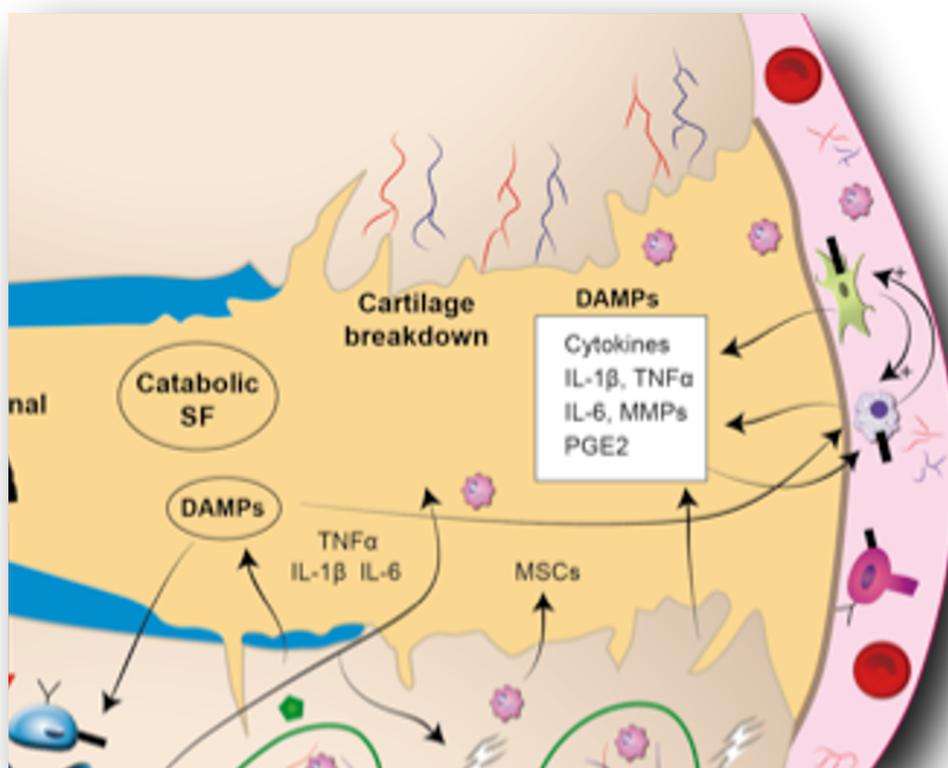


Figura 3: el intercambio de células y moléculas inflamatorias desde el hueso subcondral a la superficie articular activará vías inflamatorias en toda la articulación.

A nivel celular, varias células inmunes han sido identificadas en el proceso inflamatorio asociado a la OA, siendo los macrófagos, las células T y las células B las más abundantes³¹. Los macrófagos son las células inmunes más abundantes en la articulación con OA³². El microambiente local determinará el comportamiento de estas células. Moléculas como el IFN- γ , el TNF- α o DAMPs activarán el macrófago a su fenotipo proinflamatorio (M1M ϕ), que secretará citoquinas (IL-1, IL-6-, IL-12, iNOS) que mantendrán la respuesta inflamatoria.

Por el contrario, los macrófagos polarizados hacia su fenotipo trófico (M2M ϕ) secretarán moléculas (TGF- β , Arg-1) que regularán a la baja la inflamación y promoverán el remodelado articular^{33,34}. Los dos fenotipos celulares son necesarios y coexisten en el normal funcionamiento articular, pero fallos en la transformación de M1M ϕ a M2M ϕ podría resultar en una inflamación crónica persistente, llevando al daño tisular³⁵⁻³⁷. La siguiente célula inmune más abundante en la articulación del paciente con OA son los linfocitos T (T-cell). Podemos, a grandes rasgos, dividir los T-cell en T-helper (T_H), T-citotóxicos (T_C) y T-reguladores (T_{regs}). Los dos primeros son los llamados T-efectores y los estudios sugieren que están directamente implicados en el desarrollo de la OA^{38,39}. Estas células producen citoquinas que no sólo provocan inflamación sino que reclutan más células t-efectoras, perpetuando la inflamación y provocando daño tisular⁴⁰. Bajo la inducción de ciertas citoquinas (como el TGF- β), las células T se pueden diferenciar a T_{regs}. Estas células actúan como importantes inmunomoduladores, disminuyendo la respuesta inflamatoria^{41,42}. Diversos estudios demostraron que cuando la ratio entre Tefectores y Tregs estaba alterado en favor de los T-efectores, la OA se exacerbaba⁴³⁻⁴⁶. La tercera célula inmune a considerar son los linfocitos B (B-cell). Si los productos de descomposición de la matriz del cartílago quedan expuestos, las B-cells pueden ser estimuladas para producir autoanticuerpos y activar la inmunidad humoral⁴⁷, llevando a una alteración en todo el ambiente de la articulación. El depósito de esos anticuerpos en la superficie condral podrá inducir una activación del sistema del complemento y promover más daño tisular^{48,49}.

Existe otro tipo celular con una importancia fundamental en el proceso de la OA: las MSCs. Son células inmunomoduladoras⁵⁰⁻⁵², capaces de regular al resto de células inmunes. Al igual que ocurre con otros tipos celulares, la activación de receptores de membrana en las MSCs puede provocar la polarización de las mismas hacia fenotipos proinflamatorios (MSC1) o tróficos (MSC2). Las moléculas producidas durante el daño tisular o patógenos externos son reconocidos por determinados receptores TLR en la membrana celular e inducir una polarización a MSC1⁵³. Este fenotipo promueve una respuesta inmune, necesaria en la fase temprana de la inflamación, provocando una acumulación de células inflamatorias en el tejido articular, con fines protectores.

En las fases tardías de la inflamación aumentan los niveles de ligandos para otro tipo de receptores TLR en la membrana de las MSCs que inducirá la polarización a MSC2, con el fin de prevenir el daño prolongado a la articulación⁵⁴. El fallo en esta transformación hacia fenotipos tróficos podría mantener un estatus inflamatorio que llevaría a la degeneración articular y la OA²⁴. Las MSCs realizan su función bien por contacto celular directo o mediante secreción paracrina de factores de crecimiento, citoquinas y vehículos extracelulares (exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos)⁵⁵. Estas señales celulares afectarán al comportamiento de otras células inmunes, deteniendo la secreción de citoquinas proinflamatorias e induciendo una polarización hacia sus fenotipos tróficos o reguladores. En este sentido, las MSCs podrían restaurar la homeostasis articular y prevenir o reducir el daño tisular (figura 4).



Figura 4: el microambiente de la articulación determinará la polarización de los diferentes tipos celulares hacia su fenotipo inflamatorio o hacia el trófico o reparador. Esto podrá conducir a la degeneración articular o mantener la homeostasis fisiológica.

En las articulaciones con OA, existen alteraciones importantes a nivel de las MSCs. En primer lugar, se ha demostrado un incremento aberrante en el número de MSCs en articulaciones con OA, tanto en el líquido sinovial como en el hueso subcondral. Existe un reclutamiento de MSCs desde el hueso subcondral a la superficie articular⁵⁶⁻⁵⁸. Además, su perfil de diferenciación se encuentra alterado, con una reducción de la diferenciación condrogénica y adipogénica, y un incremento de la capacidad osteogénica⁵⁹. Incapaces de regular el remodelado óseo, provocan un crecimiento fibrovascular a nivel

del hueso subcondral⁵⁸. Finalmente, existe un incremento en el porcentaje de MSCs senescentes en la OA, con la consecuente pérdida de su función reguladora⁶⁰. Por lo tanto, las MSCs en la OA presentan serias alteraciones que llevarán al daño tisular.

Todas las alteraciones anteriormente descritas, tanto a nivel tisular como celular, condicionan la pérdida de la homeostasis articular, llevando a la inflamación de bajo grado que origina la OA (figura 5). Son todas ellas interesantes dianas terapéuticas para la medicina regenerativa. En este contexto, los tratamientos biológicos con PRP se presentan como moduladores de la respuesta celular, capaces de reducir la actividad inflamatoria y promover la polarización hacia fenotipos tróficos mediante la modificación del microambiente celular.

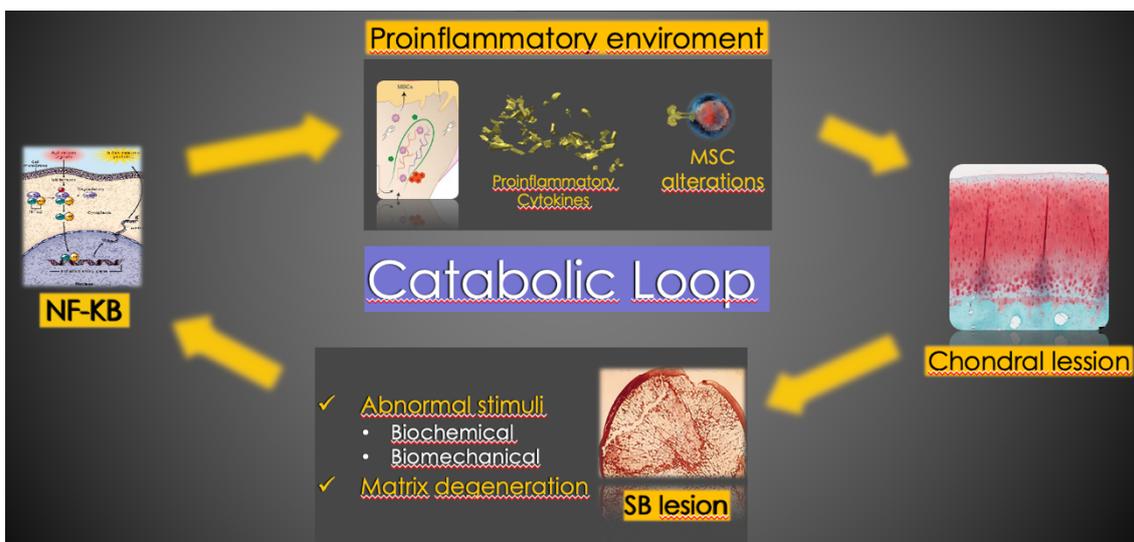


Figura 5: representación del bucle catabólico articular. Todos los tejidos de la articulación están implicados en el proceso degenerativo; la lesión en cada tejido perpetúa el proceso de lesión tisular global que acontece en la OA.

1.3 Definición de PRP

El PRP es una terapia biológica de origen autólogo, que emplea la sangre del propio paciente para obtener un volumen de plasma con una suspensión de plaquetas, cuya concentración es superior a la concentración de plaquetas en sangre periférica. Existen diversos métodos de obtención del PRP; estos métodos determinarán la composición última del PRP, que estará compuesto por plasma, plaquetas en una concentración variable (superior a la concentración en

sangre periférica), así como eritrocitos y leucocitos en una concentración variable, que puede ir desde su ausencia hasta una alta concentración de los mismos.⁶

El PRP lo constituye una estructura de fibrina autóloga, que contiene y libera de forma progresiva y mantenida moléculas bioactivas. Varias de estas moléculas (factores de crecimiento) están relacionadas con procesos homeostáticos articulares, teniendo la potencial capacidad de modificar el curso de la enfermedad en la OA⁶¹. Sin embargo, existen múltiples variables en los métodos de extracción, preparación, así como en los protocolos de aplicación de los tratamientos con PRP. En los últimos años han surgido multitud de sistemas de preparación de PRP, que ofrecen un producto final de muy diferentes características biológicas (número de plaquetas sobre el nivel basal en sangre periférica, presencia o ausencia de células rojas, presencia, ausencia o aumento de la presencia de leucocitos, tipo de activación plaquetaria...) Todas estas variables influirían en el resultado final del tratamiento y por lo tanto, en los resultados clínicos reportados. Así mismo, existen grandes diferencias en los protocolos de administración del PRP (localización de las infiltraciones, número y frecuencia de las infiltraciones, volúmenes empleados, incorporación de otros productos asociados al PRP...); una aplicación inapropiada puede conducir a unos resultados clínicos insatisfactorios^{62,63}.

1.4 Clasificación del PRP

La gran variedad de productos englobados en el término PRP^{6,64,65} condiciona severas limitaciones a la hora de evaluar los resultados del mismo. Los estudios en el campo de la terapia biológica con PRP incluyen formulaciones de PRP muy diferentes en función del método de obtención y preparación y a pesar de ello se analizan los resultados como si de un mismo producto biológico se tratase. Esta gran variabilidad hace que sea difícil realizar una correcta comparación entre estudios, y que por lo tanto las conclusiones sean a menudo confusas e incluso contradictorias. Igualmente, en la literatura existe una laguna en los datos proporcionados por los autores acerca de la composición y la actividad biológica del PRP concreto empleado⁶⁶, siendo esto constante tanto en investigación clínica como preclínica⁶⁷⁻⁶⁹. Un artículo reciente concluyó que tan sólo 11/105 estudios (10%) proporcionaron informes completos sobre el

protocolo de preparación de PRP, y solo 17/105 estudios (16%) proporcionaron métricas cuantitativas sobre la composición del PRGF final⁷⁰.

Es por esto que en los últimos años la comunidad científica clama por un sistema de clasificación de los PRP que aporte luz en este vacío de datos reportados. Varios intentos se han realizado en encontrar una clasificación útil, sencilla y abierta de los PRPs, pero sin conseguir un consenso entre los expertos⁷¹⁻⁷³. En el 2020 se publicó un sistema de codificación, fruto de un consenso de expertos, que ofrece una clasificación simplificada del PRP⁷⁴. Es un sistema de clasificación de 6 dígitos emparejados que aportan información sobre composición plaquetaria, presencia de otros tipos celulares y activación: N₁N₂-N₃N₄-N₅N₆. Los dígitos N₁ y N₂ muestran la composición plaquetaria del PRP, indicando la concentración plaquetaria en relación a la concentración basal en sangre periférica. Los dígitos N₃ y N₄ indican la pureza del PRP, en cuanto a la presencia o ausencia de eritrocitos y la concentración de leucocitos. Los dígitos N₅ y N₆ indican el método de activación. N₅ indica si la activación es endógena (0) o si la activación es previa a la infiltración (1) y N₆ hace referencia a la adición de calcio para la activación (0=no, 1=si). La clasificación se completa con 3 tablas que aportan información adicional sobre aspectos relacionados con el PRP empleado dependiendo de si se trata de estudios *in vitro*, *in vivo* o clínicos.

1.5 Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF)

Los estudios englobados en este trabajo emplean el PRGF como producto biológico terapéutico. El PRGF es un PRP con una concentración de plaquetas por encima de 2 veces superior a la concentración en sangre periférica, sin presencia de eritrocitos ni leucocitos, en el que se realiza activación de las plaquetas mediante la adición de cloruro cálcico (CaCl₂)⁷⁵. Se correspondería con un tipo de PRP 13-00-11 conforme a la nueva clasificación descrita anteriormente.

Se extrae la sangre en tubos de 9 ml, con citrato de sodio al 3,8% como agente anticoagulante. Tras una centrifugación a 580g durante 8 minutos se obtiene una columna de plasma libre de eritrocitos y leucocitos, que concentra las plaquetas en la mitad inferior de dicha columna, con unos valores entre 2 y 3 veces los niveles de plaquetas en sangre periférica; la mitad superior de la

columna de plasma presenta unos valores de concentración plaquetaria similares a los de la sangre periférica. La activación se realiza con CaCl_2 , de forma que no se emplea trombina bovina (como hacen otros PRP), ya que es una fuente de posibles reacciones inmunológicas⁷⁶⁻⁷⁸. Una característica a destacar en el PRGF es la ausencia de leucocitos. Esto hace del PRGF un producto seguro y homogéneo, pues la concentración de leucocitos es altamente variable entre individuos e incluso en el mismo donante, puesto que son células muy dependientes de pequeñas perturbaciones en la homeostasis corporal. Los leucocitos además pueden promover un ambiente proinflamatorio liberando $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, $\text{IFN-}\gamma$, citoquinas, que inducen la sobreexpresión de metaoloproteasa (MMPs), elastasa y catepsina G, así como especies reactivas de oxígeno (ROS) entre otros, destruyendo de esta forma la matriz extracelular (MEC) y exacerbando la lesión original⁷⁹. Diferentes estudios reportan un efecto nocivo de los leucocitos sobre los sinoviocitos, condrocitos, células madre mesenquimales (MSC); así mismo los relacionan con una peor respuesta clínica⁸⁰⁻⁸².

Tras la activación del PRGF, el fibrinógeno plasmático formará una estructura tridimensional de fibrina con dominios vinculantes heparán-sulfato para que se unan de forma reversible los factores de crecimiento (PDGF, FGF, HGF, BDGF, VEGF, IGF y $\text{TGF-}\beta$). Además contiene citoquinas ($\text{TNF-}\alpha$, IL-2, 3, 4, 5), quimioquinas (PF4), componente de MEC (fibronectina, trombospondina y tenascina), moléculas de adhesión celular (L-selectina y N-CAM), proteínas de fase aguda y proteínas relacionadas con el metabolismo lipídico^{83,84}. Una vez distribuida en el tejido inyectado, de degradación o fibrinólisis de esta estructura liberará de forma prolongada y sostenida las diferentes biomoléculas que contiene, generando un estímulo homeostático a nivel tisular y favoreciendo los procesos de regeneración tisular^{85,86}.

1.6 PRGF y degeneración articular

El PRP contiene una gran cantidad de moléculas bioactivas, por lo que sería erróneo definir el efecto del PRP en función de las acciones aisladas de cada molécula. Más aún, el efecto del PRP no depende de cada molécula, sino de las acciones sinérgicas de las mismas. En efecto, muchas moléculas de PRP

se activan en presencia de otras, o por el contrario muchas tienen efectos antagónicos, condicionando el efecto final del PRP.

1.6.1 Efecto anti-inflamatorio.

Debido a la compleja fisiopatología de la OA, la inflamación puede ser tanto la causa como la consecuencia de otros procesos patológicos. Por ello, es importante revertir el ambiente proinflamatorio de esta patología y restaurar la homeostasis de la articulación para promover la reparación tisular. Muchas de las moléculas de PRP participan en la regulación de estos procesos inflamatorios, que son clave en la progresión de la patología. El efecto antiinflamatorio del PRP se consigue mediante la acción de sus biomoléculas (IGF-1, HGF, PDGF, TGF- β ...) a diferentes niveles. Este efecto se produce a través de la inhibición de la vía de señalización intracelular NF-K β por parte de estas moléculas y, como resultado, se reduce la generación de moléculas proinflamatorias como IL- β o TNF- α ^{87,88}. Este efecto inhibitorio no solo se limita a los condrocitos, sino que también afecta a otros fenotipos celulares, como fibroblastos, osteoblastos⁸⁹ o macrófagos⁹⁰. La consecuencia de silenciar esta vía en los diferentes tipos celulares de la articulación es la disminución de los niveles moleculares inflamatorios del líquido sinovial, aliviando el ambiente inflamatorio global⁹¹.

Dentro de su acción antiinflamatoria, el PRP también actúa sobre los macrófagos cambiando su fenotipo. El resultado es un cambio de fenotipo de los macrófagos de fenotipo inflamatorio (M1M ϕ) a reparador (M2M ϕ), donde se favorece la reducción de la inflamación y se estimula la reparación tisular⁹². Este efecto es especialmente importante en los macrófagos presentes en la membrana sinovial, generando una disminución de la inflamación de la misma, tan característica en la OA⁹³. Esta polarización hacia un estado trófico y reparador puede deberse a la acción del antagonista del receptor de la IL-1, presente en el PRP, que además de evitar el efecto inflamatorio de la IL-1 promueve el cambio de fenotipo a M2 de los macrófagos⁹⁴.

El entorno inflamatorio en la articulación osteoartétrica también se ve potenciado por la mayor presencia de moléculas ROS, que participan en la patogenia de la OA a través de la inflamación sinovial, la degradación del cartílago o la disfunción del hueso subcondral⁹⁵. El PRP activa el elemento de respuesta antioxidante a través de la vía de señalización intracelular Nrf2-ARE

en los osteoblastos⁹⁶. Con ello se consigue un efecto antioxidante y protector en estas poblaciones celulares, evitando el daño causado por el incremento de especies reactivas de oxígenos (ROS).

La interacción de las biomoléculas de PRP en los mecanismos que desencadenan la inflamación resulta no solo en una disminución de los niveles de moléculas proinflamatorias y ROS sino también en una promoción de la expresión génica relacionada con la acción antiinflamatoria⁹⁷.

1.6.2 Efecto analgésico

El dolor es uno de los síntomas más característicos de la OA y uno de los factores más limitantes para el paciente, afectando su funcionalidad y calidad de vida. Una de las principales causas del dolor asociado a la degeneración articular es la inflamación que se produce. Resolver el problema inflamatorio aliviaría en parte el dolor del paciente con artrosis. Este alivio es uno de los efectos más observados en estudios clínicos ya que es la variable más estudiada. Sin embargo, es necesario profundizar en los mecanismos de acción por los cuales el PRP logra el efecto analgésico. Durante los procesos inflamatorios, los macrófagos residentes generan moléculas entre las que destaca la prostaglandina E2 (PGE2), que es una de las principales causas del dolor inflamatorio⁹⁸. Como se mencionó anteriormente, el PRP favorece el cambio en los macrófagos de fenotipo proinflamatorio a antiinflamatorio y como consecuencia una reducción en la producción de PGE2 y otras moléculas proinflamatorias⁹³. Además, la acción del PRP sobre la vía NF- κ B también podría reducir los niveles de sustancias que estimulan los nociceptores de la membrana sinovial articular⁹⁹. Por tanto, la inhibición de la síntesis de estas sustancias es uno de los mecanismos de acción por los que el PRP reduce el dolor.

Aunque la acción sobre la inflamación puede ser el mecanismo más predominante en el alivio del dolor, se ha estudiado la implicación de otras vías, como el mecanismo mediado por endocannabinoides periféricos, que podría ser un objetivo terapéutico prometedor en el tejido sinovial de pacientes con OA¹⁰⁰. La influencia del PRP sobre este sistema de señalización está asociada a la estimulación que se produce en las células situadas en ambientes inflamatorios. En presencia de PRR, estas células generarían sustancias analgésicas como la anandamida y el 2-araquidonoilglicerol, que son agonistas de los receptores

cannabinoides 1 y 2. Este efecto se observa tanto in vitro como in vivo, con una menor respuesta nociceptiva en los animales tratados⁹⁹.

1.6.3 Efecto biolubricante

Uno de los problemas asociados a la artrosis es la falta de lubricación y por tanto el aumento de la fricción en la articulación. En una articulación sana, el líquido sinovial tiene una función lubricante natural debido a la presencia de ácido hialurónico. La alteración de los componentes del líquido sinovial empeora la lubricación, deteriorando el cartílago. Además, esta capa de lubricante disminuye progresivamente a medida que empeora la enfermedad, creando un círculo vicioso¹⁰¹. Restaurar la lubricación articular es una de las prioridades para mejorar el curso de la enfermedad, y es el objetivo de las infiltraciones intraarticulares de ácido hialurónico¹⁰².

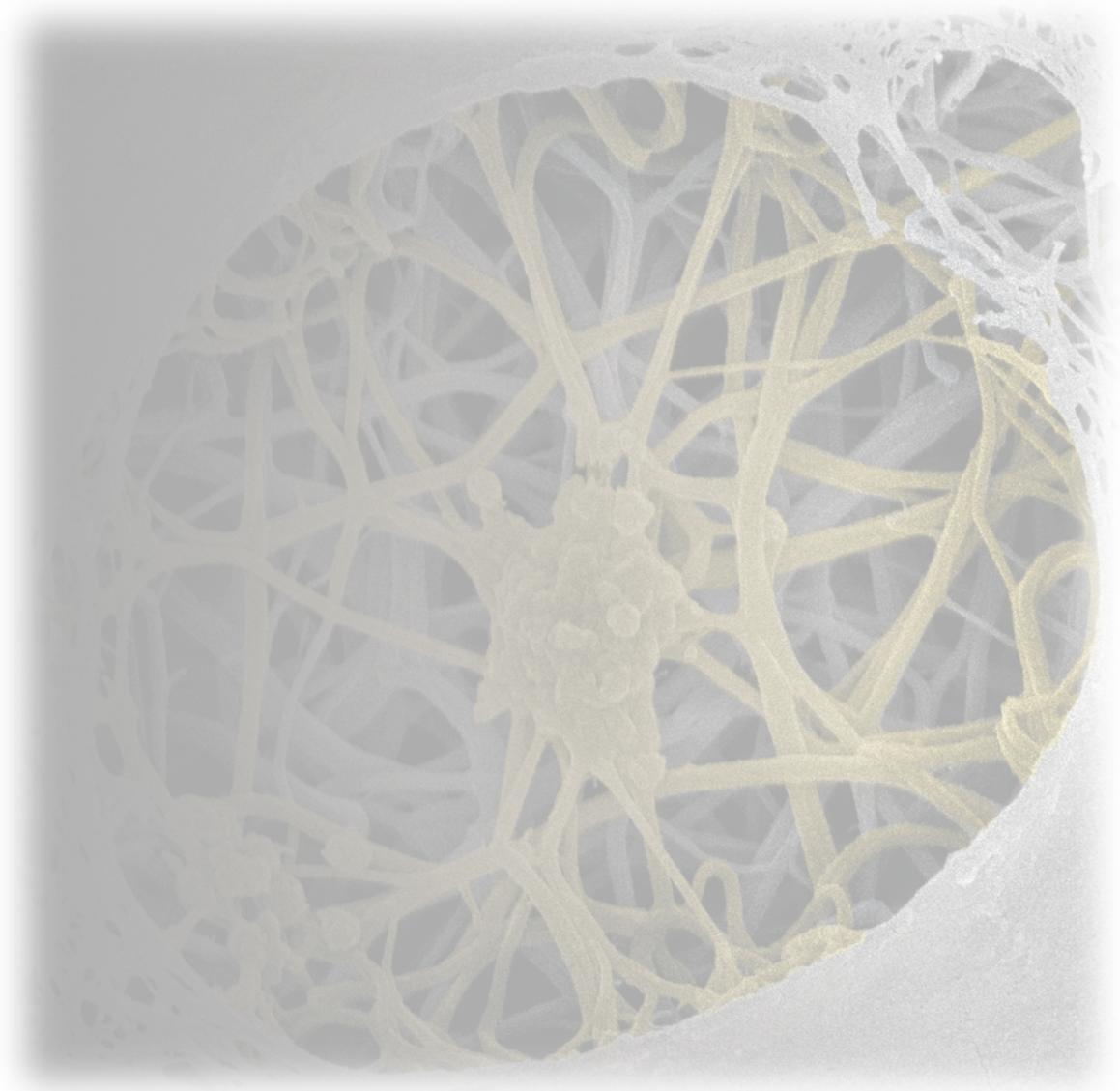
La aplicación de PRP también puede restaurar la lubricación de las articulaciones a través de varios mecanismos. En primer lugar, tiene un efecto estimulante sobre los condrocitos y sinoviocitos, debido a que no solo potencia su proliferación sino que también aumenta la producción de ácido hialurónico, mejorando la capacidad lubricante del líquido sinovial¹⁰³⁻¹⁰⁵. En segundo lugar, el PRP también influye en la lubricación a través de la proteína de la zona superficial (SZP) o lubricina. Esta proteína sintetizada por los condrocitos y los sinoviocitos actúa como barrera condroprotectora frente al contacto directo en las articulaciones. El PRP mejora la lubricación tanto directamente, ya que contiene SZP endógeno, como indirectamente al estimular la secreción de SZP por parte del cartílago articular y la membrana sinovial¹⁰⁶.

1.6.4 Efecto modulador celular

Todos los efectos descritos anteriormente se generan a través de la interacción entre los factores de crecimiento y los receptores de la membrana celular, desencadenando vías intracelulares y afectando la expresión génica que genera proteínas con efectos biológicos. Además de los efectos sobre la inflamación, el dolor y la lubricación, existen otros efectos tróficos y reguladores que, si bien no tienen una traslación clínica tan evidente, son necesarios para promover la inflamación tisular, reparar y revertir o ralentizar la enfermedad.

El PRP ha demostrado su efecto biológico sobre los condrocitos del cartílago articular y su consecuente impacto en la reparación del cartílago¹⁰⁷. Por un lado, actúa sobre el comportamiento celular, aumentando las tasas de crecimiento, migración y proliferación y reduciendo efectos negativos como la apoptosis. Por otro lado, el PRP potencia la síntesis de glicosaminoglicanos (GAGs), proteoglicanos y colágeno, mejorando la producción de matriz extracelular.

Además, la estimulación de la reparación del cartílago también está condicionada por la acción de las MSC. Son capaces no solo de diferenciarse en células con funciones especializadas como condrocitos, osteoblastos y adipocitos, sino también de liberar moléculas y señales celulares que regulan los procesos de reparación¹⁰⁸. En un ambiente patológico, estas células ven alterada su función, perdiendo su actividad reparadora⁵⁸. Teniendo esto en cuenta, las células madre mesenquimales se consideran una diana terapéutica del PRP para modular su comportamiento y restaurar sus funciones fisiológicas. Muiños-López et al. observó una disminución de las MSC en el líquido sinovial de pacientes con OA grave después de la aplicación de PRP directamente en el hueso subcondral¹⁰⁹. La capacidad reguladora del PRP sobre las MSC puede deberse a la acción directa sobre su respuesta celular así como a la mejora del entorno biológico en el que residen las células. Las MSC derivadas de la médula ósea tratadas con PRP mostraron un aumento en la proliferación y la capacidad condrogénica¹¹⁰. Este aumento de la proliferación también se observó en células madre derivadas de tejido adiposo humano, aunque se mantuvo su potencial de diferenciación condrogénica¹¹¹. Restaurar la homeostasis del tejido donde residen las MSC, por ejemplo, al disminuir la inflamación al inhibir las moléculas proinflamatorias, también mejora la acción de estas células. La atenuación de un exceso de señalización mediado por TGF- β en el hueso subcondral durante la OA restaura la disfunción de las MSC, previniendo la degeneración del cartílago⁵⁶. Liu et al. observaron que las infiltraciones intraóseas de PRP promovieron la proliferación de células MSC y la osteogénesis en un estudio in vivo, mientras que la adipogénesis, la senescencia celular y el estrés oxidativo disminuyeron¹¹².



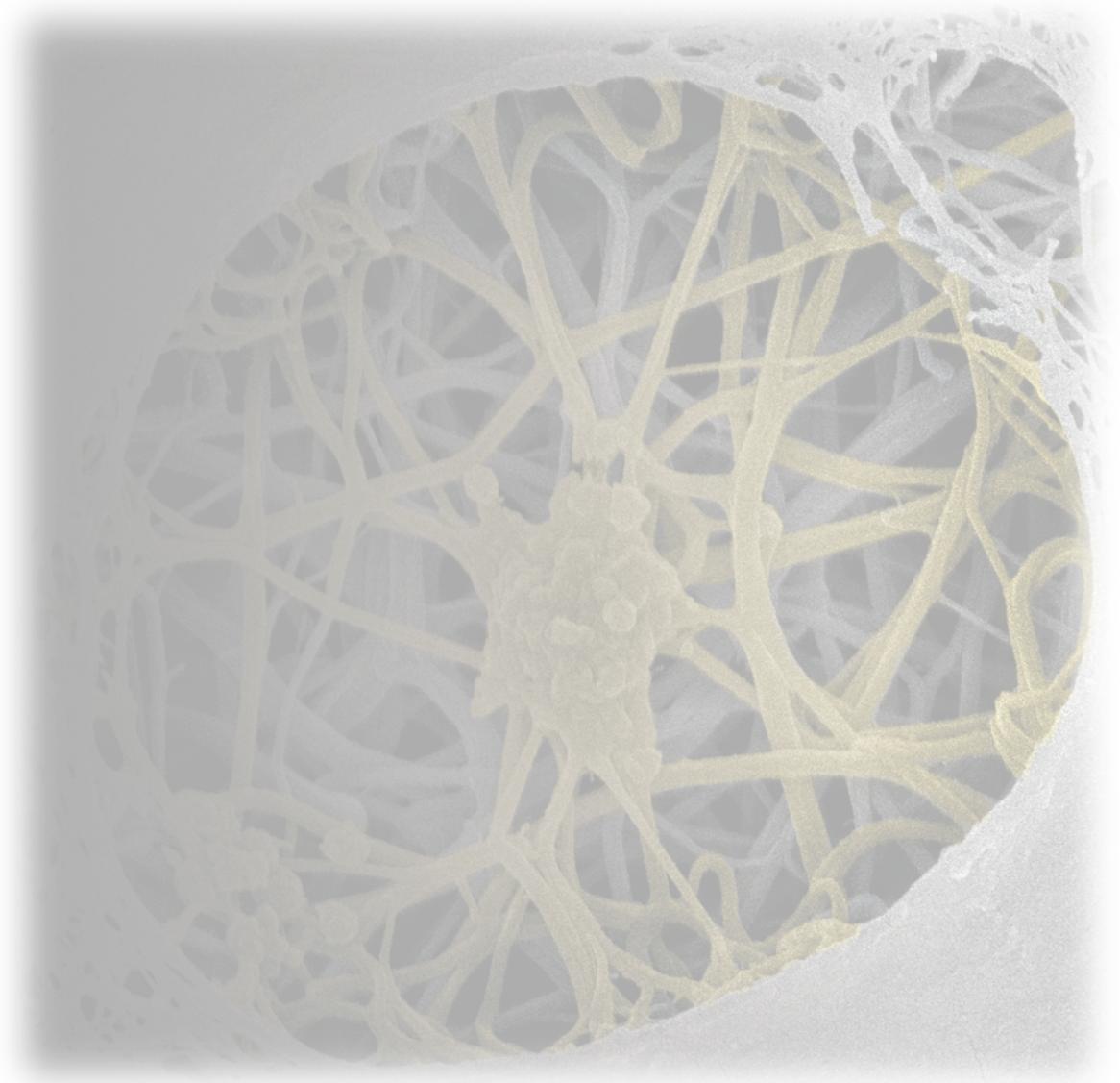
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

El PRP intraóseo en la OA de cadera actúa modificando el microambiente celular y por lo tanto influyendo en el comportamiento celular, lo que tendrá una repercusión clínica en el paciente, tanto por acción directa sobre la inflamación, el dolor y la biolubricación de la articulación, como por una modificación del comportamiento celular que dirigirá a las células hacia una polarización a sus fenotipos tróficos, modificando por tanto el curso de la enfermedad. Estos efectos del PRP serán más eficaces en tanto en cuanto los tratamientos se dirijan al mayor número de tejidos articulares implicados, siendo el hueso subcondral (y por lo tanto las infiltraciones intraóseas) un elemento clave en este sentido por su papel fundamental en la patogénesis de la OA, sus importantes relaciones con el cartílago y por su particular contenido celular (MSCs).

Teniendo en cuenta lo anterior, se han determinado los siguientes objetivos:

- Definir la técnica y el protocolo de infiltración de PRP intraóseo en la articulación de la cadera, demostrando su seguridad y reproducibilidad.
- Estudiar los resultados clínicos de la infiltración intraósea de PRP en cadera en pacientes con OA de cadera en estadios avanzados (grados II y III en la clasificación de Tönnis)
- Estudiar por primera vez en humanos, el efecto del PRP intraóseo en las MSCs de hueso subcondral de cadera en su nicho biológico, analizando su capacidad de proliferación en el hueso subcondral, su senescencia y su modificación genética a favor de la multipotencia y promoviendo la regeneración del cartílago.

Para lograr cada uno de los objetivos, se plantearon los estudios expuestos a continuación.



3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Estudio 1: Infiltración Intraósea de Plasma Rico en Plaquetas para la Artrosis Severa de Cadera

3.1.1 TÉCNICA DE INFILTRACIÓN (figura 6)

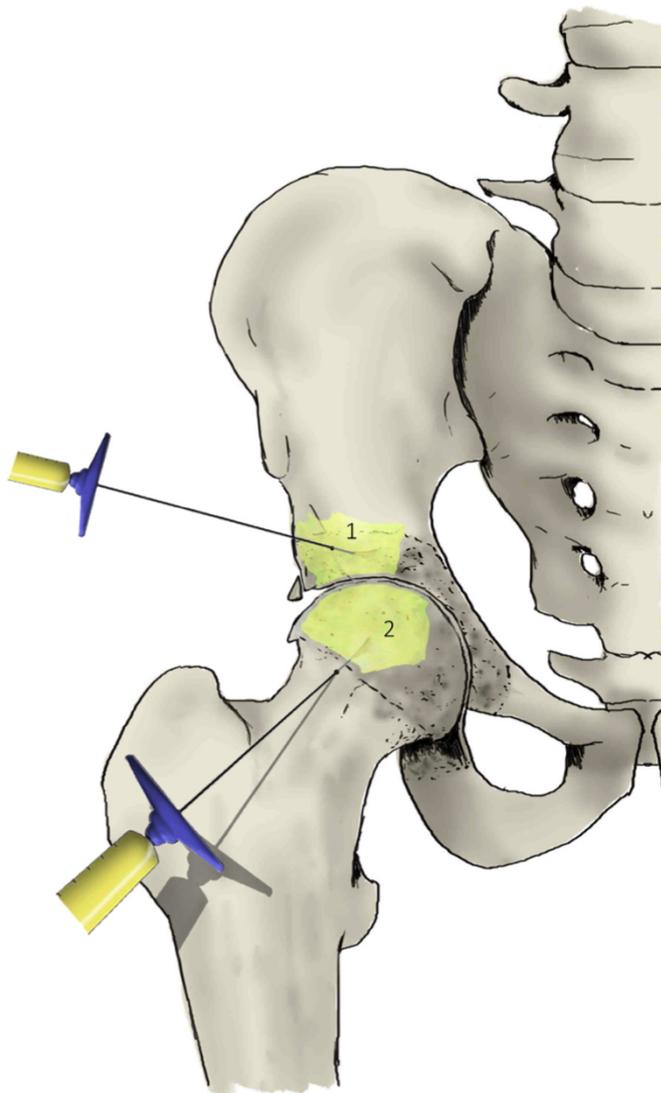


Figura 6: esquema del procedimiento de infiltración intraósea a nivel de la articulación de la cadera

3.1.1.1 Diagnóstico

El diagnóstico de la OA se basa en criterios clínicos y radiográficos. Las radiografías utilizadas son la proyección anteroposterior (AP) de pelvis en carga y la vista axial de Lowenstein. Los pacientes con OA grado II y III según la clasificación de Tönnis se consideran candidatos a esta técnica.

3.1.1.2 Preparación PRP

Antes de inducir la sedación, se extraen unos 80 mL de sangre venosa del paciente para preparar el PRP según tecnología PRGF-Endoret (Instituto de

Biotecnología [BTI], Vitoria-Gasteiz, España). La sangre se centrifuga a 580 g durante 8 minutos a temperatura ambiente. La fracción de plasma de 2 mL ubicada justo encima de los glóbulos rojos sedimentados, pero sin incluir la capa leucocitaria, se recolecta en un tubo y se lleva a la sala de inyección para su uso. Para iniciar la activación de la coagulación plaquetaria, se agrega cloruro cálcico (10 % p/vol) al PRP líquido justo antes de la inyección. Todos los procedimientos se realizan en condiciones estériles.

3.1.1.3 Preparación del paciente

La sedación se realiza mediante la infusión de, así como una dosis única de midazolam (0,03-0,05 mg/kg) y fentanilo (3,2 mg/kg), en vena periférica; también se administra una dosis única o repetida de propofol (1-2 mg/kg), según la duración de la infiltración. El grado de sedación es -4 o -5 en la escala de sedación de Richmond. El paciente se coloca en decúbito supino sobre la mesa de operaciones. En la piel del paciente se dibujan, como referencias cutáneas, la espina ilíaca anterosuperior y el trocánter mayor. Se prepara el área de infiltración con una solución de povidona yodada, cubriendo una región 10 cm proximal y 10 cm distal a la zona de infiltración. Se colocan paños estériles que definen la zona de tratamiento.

3.1.1.4 Infiltración intraarticular

La infiltración es guiada por ecografía. Cuando se ha localizado la cabeza del fémur, la sonda de ultrasonido se dirige hacia la parte media del cuello femoral. Para realizar la infiltración intraarticular de PRP se utiliza una aguja calibre 18G, orientada en la misma dirección del portal artroscópico anterolateral-distal. La aguja se dirige hacia la zona de transición entre la cabeza y el cuello del fémur para evitar lesionar el labrum acetabular. Una vez insertada la aguja en el espacio articular, se inyectan 8 mL de PRP. Se recomienda realizar la infiltración en 30° de flexión articular, lo que distenderá la cápsula anterior de la articulación de la cadera, facilitando así la entrada del PRP.

3.1.1.5 Infiltración acetabular intraósea

La infiltración intraósea se realiza guiada con fluoroscopio, que proporciona la vista AP de la articulación de la cadera. Se introduce un trocar de biopsia ósea

calibre 11G 3 cm proximal a la línea articular dibujada previamente y en línea con el portal artroscópico anterolateral. El trocar se coloca en dirección cráneo-caudal, con una inclinación de 20° y paralelo al plano horizontal, y se empuja hasta alcanzar la pared lateral del acetábulo. El hueso acetabular de este lado es duro y resistente, por lo que la infiltración puede ser difícil; la inclinación utilizada para esta infiltración nos ayuda a penetrar en el hueso. También nos permite controlar la colocación del trocar cerca del hueso subcondral. Con la ayuda de un martillo se introduce el trocar en el acetábulo, hasta situarlo a 1 cm de la línea articular. Luego se introducen 5mL de PRP por vía intraósea (figura 7).



Figura 7: posicionamiento del trocar de infiltración a nivel acetabular (imagen de fluoroscopia).

3.1.1.6 Infiltración femoral intraósea

Siguiendo la dirección del portal artroscópico anterior, se introduce el trocar de calibre 11G en la cabeza del fémur. El punto de entrada en la piel se sitúa 1 cm lateral al músculo sartorio para evitar lesiones del nervio femorocutáneo durante la infiltración. La colocación del trocar se orienta en la misma dirección que el portal artroscópico anterolateral-distal. El punto de entrada en la cabeza femoral está en la unión del cuello y la cabeza femorales para evitar daños en el cartílago articular. Con la ayuda del martillo, se introduce el trocar a 1 cm de la

línea articular, controlando el posicionamiento del trocar con fluoroscopia. Luego se introducen 5mL de PRP por vía intraósea (figura 8).

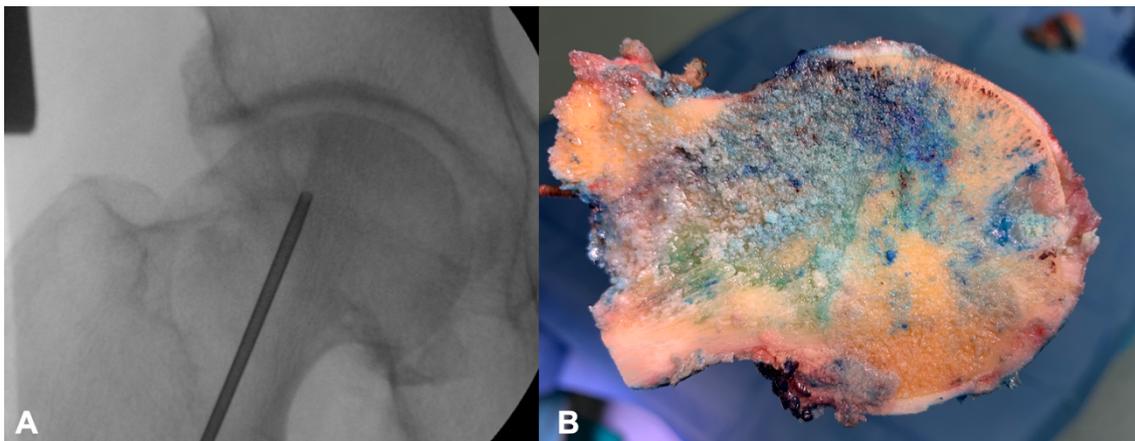


Figura 8. A: posicionamiento del trócar de infiltración a nivel de la cabeza femoral (imagen intraoperatoria de fluoroscopia); **B:** imagen de la difusión del PRP intraósea a nivel de la cabeza femoral obtenida tras la aplicación de 5 ml de PRP teñido con azul de metileno e infiltrado en una cabeza femoral de donante según la técnica descrita.

Finalmente, tras finalizar las infiltraciones y retirar los paños estériles, se limpia la piel con una solución de alcohol y se aplican apósitos en los puntos de infiltración. Luego se aplica hielo de forma local. En los días posteriores a la infiltración, el paciente puede cargar peso y tomar analgésicos (paracetamol) según el nivel de dolor. Se realizan dos infiltraciones intraarticulares más de PRP de 8 mL cada una, 7 y 14 días después del primer tratamiento, utilizando la técnica descrita para este procedimiento¹¹³.

3.1.2 Resultados clínicos: Estudio Piloto

3.1.2.1 Pacientes

Este estudio prospectivo de serie de casos incluyó un total de 40 pacientes reclutados entre 2015 y 2016. Se examinaron radiografías digitalizadas de las caderas afectadas para determinar el grado de OA según el esquema de clasificación desarrollado por Tönnis. Los pacientes reclutados tenían OA grado 2 y 3 según la escala de Tönnis, y eran susceptibles de una artroplastia total de cadera, ya que no habían respondido al tratamiento previo basado en infiltraciones de PRP intraarticular. El dolor al inicio era al menos de intensidad leve, >20/100 en una escala analógica visual (EVA) de 100 mm. Los criterios de exclusión fueron pacientes jóvenes menores de 18 años, protrusión acetabular,

migración concéntrica de la cabeza femoral, cirugía extensa de la articulación de referencia (por ejemplo, osteotomías alrededor de la cadera, osteocondroplastia abierta o artroscópica por pinzamiento femoroacetabular), deformidad excesiva (como displasia acetabular o de la cabeza femoral). , deformidad por colapso de la cabeza femoral y secuelas de la cabeza femoral con deformación por enfermedad de Perthes), enfermedad reumática concomitante, mala salud general que interfirió con las evaluaciones, inyecciones intraarticulares (IA) de corticosteroides, ácido hialurónico o PRP y lavado articular en los 6 meses anteriores. Los fármacos sintomáticos de acción lenta se retiraron antes del tratamiento con PRP. Se permitieron los medicamentos concurrentes, como paracetamol o AINE, pero se suspendieron 48 h antes del seguimiento y de completar los cuestionarios de valoración por el paciente: EVA, hip disability and osteoarthritis outcome (HOOS) y Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC). Recibieron una combinación de dos infiltraciones intraóseas de PRP con la primera inyección intraarticular seguida de dos inyecciones IA más en las siguientes dos semanas.

3.1.2.2 Preparación del PRP

Se extrajeron 80 mL de sangre venosa en tubos de 9 mL que contenían citrato de sodio al 3,8% (p/V) y se centrifugaron a 580 g durante 8 min a temperatura ambiente (Instituto de Biotecnología BTI, Vitoria-Gasteiz, España). La fracción de plasma de 2 ml situada justo encima de la fracción roja, pero sin incluir la capa leucocitaria, se recogió en un tubo y se llevó a la sala de inyección para su uso. Este PRP contenía una concentración moderada de plaquetas de 1,5 a 2,5 veces la concentración de plaquetas en comparación con la sangre periférica, dependiendo del número y el tamaño de las plaquetas, así como del hematocrito. No se incluyeron leucocitos en esta preparación de PRP. Para iniciar la activación de la coagulación plaquetaria, se añadió cloruro de calcio (10 % p/v) a las alícuotas de PRP líquido justo antes de la inyección. Todos los procedimientos se realizaron en condiciones estériles.

3.1.2.3 Tratamiento

La primera administración de PRP incluyó tres inyecciones diferentes en diferentes localizaciones anatómicas realizadas en el quirófano. Primero se

realizó una inyección intraarticular de PRP y posteriormente dos inyecciones intraóseas de PRP según la técnica anteriormente descrita. Bajo vigilancia anestesiológica, se indujo la sedación del paciente. Se realizó una inyección intraarticular guiada por ultrasonido utilizando una aguja de calibre 18 orientada en la misma dirección que el portal artroscópico anterolateral-distal. Con 30 de flexión articular para facilitar la infusión de la infiltración de PRP, se inyectaron 8mL de PRP en el espacio articular. A continuación, con la guía de un fluoroscopio, se obtuvo una vista anteroposterior de la articulación de la cadera para realizar la primera infiltración intraósea en el acetábulo. El trocar se colocó en dirección cráneo-caudal, paralelo al plano horizontal y con una inclinación de 20°. Una vez introducido el trocar en la pared lateral del acetábulo y situado a 1 cm de la línea articular, se inyectaron 5mL de PRP. Finalmente, se realizó la segunda inyección intraósea en la cabeza femoral cuyo punto de entrada se situó 1 cm lateral al músculo sartorio. La cabeza femoral fue abordada en la unión del cuello y la cabeza femoral, con el trocar orientado en dirección anterolateral-distal. Se introdujo el trocar a 1 cm de la línea articular y se inyectaron 5 mL de PRP. La infiltración intraósea no se centró en lesiones específicas sino que se realizó en el mismo punto en todas las intervenciones, ya que el PRP se distribuye por toda la zona subcondral independientemente de las lesiones tisulares. Una vez finalizado el procedimiento, se retiraron los paños estériles, se limpió la piel y se aplicaron apósitos para heridas en los puntos de infiltración. Luego se aplicó hielo de forma local. Durante las primeras horas tras el tratamiento se recomendó la deambulaci3n asistida con muletas y mínima carga inicial por la propia intervenci3n. A los días siguientes, se permitió la carga completa y la toma de analgésicos (paracetamol) según las necesidades del paciente; se limitó la práctica deportiva y la actividad física intensa. Se realizaron dos infiltraciones intraarticulares de PRP más 14 y 21 días después del primer tratamiento. Cuarenta y ocho horas después de cada inyección intraarticular el paciente pudo retomar su rutina diaria con actividad física normal.

3.1.2.4 Evaluación de resultados

Los pacientes completaron cuestionarios al inicio, 6 meses y 12 meses después de la tercera inyección intraarticular, y fueron evaluados por un médico diferente al que aplicó el tratamiento.

El criterio principal de eficacia fue un cambio desde el inicio en el dolor articular, medido utilizando la subescala de dolor HOOS. Las variables secundarias de eficacia incluyeron cambios en VAS, subescalas HOOS para síntomas, actividad de la vida diaria, función en deportes y recreación (Sport/Rec), calidad de vida (QOL), así como las subescalas WOMAC para dolor, rigidez y función física. En el caso de pacientes que no mejoraron y se sometieron a otros tratamientos antes de los 12 meses, se incluyeron sus valores basales para obtener la puntuación en ese momento. Para evaluar la seguridad del tratamiento, se evaluaron e informaron todas las complicaciones y eventos adversos durante las visitas de los pacientes.

3.1.2.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de potencia para estimar el tamaño de la muestra necesario para lograr una potencia del 90 % con un nivel de significación del 5% para las medidas de resultado primarias. Se utilizó un tamaño del efecto supuesto de 10 puntos (mejoría mínima clínicamente importante, MCII) con una desviación estándar (DE) de 15 puntos. Este análisis sugirió un mínimo de 34 pacientes, esperando una tasa de abandono de 0,3. Las variables demográficas y médicas (sexo, edad, IMC y grado de OA) se determinaron mediante la media, desviación estándar, rango y porcentaje. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba t de Student para datos paramétricos de muestras pareadas y la prueba de Wilcoxon para datos no paramétricos de muestras pareadas. La distribución de las muestras se evaluó mediante la prueba de Saphiro-Wilk. Los datos se consideraron estadísticamente significativos cuando $p < 0,05$. El análisis estadístico se realizó con SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, IL).

3.2 Estudio 2: Efecto de las infiltraciones intraóseas e intraarticulares combinadas de plasma autólogo rico en plaquetas sobre células estromales mesenquimales de médula ósea subcondral de pacientes con artrosis de cadera.

3.2.1 Pacientes

La investigación se realizó a partir de muestras de aspirado de médula ósea (BMA) subcondral de 12 pacientes con OA de cadera grados 2 y 3 según la escala de Tönnis y tratados en la Unidad de Cirugía Artroscópica (UCA) con una combinación de infiltraciones de PRP IO e IA. Las infiltraciones de PRP autólogo se realizaron como se describe en la sección siguiente y el período de tiempo entre las dos infiltraciones fue de 14 días. Se utilizó el seguimiento clínico de rutina a los 6 meses después de la segunda infiltración para evaluar la respuesta del paciente al tratamiento en este estudio. Este seguimiento incluía la exploración clínica por parte del médico así como el Hip dysfunction and Osteoarthritis Outcome Score (HOOS) cumplimentado por el paciente en las diferentes visitas al centro.

La respuesta positiva (denominada "respondedores" a partir de ahora) se definió de acuerdo con la evaluación del médico y una reducción en la puntuación de dolor HOOS de al menos 10 puntos desde el inicio (mejoría mínima clínicamente importante (MCII)). Una puntuación de dolor HOOS de menos de 10 puntos se clasificó como una respuesta negativa (denominada "no respondedores" de ahora en adelante). Los datos demográficos de los pacientes, los detalles clínicos, su medicación o su ausencia junto con sus evaluaciones de respuesta al tratamiento de 6 meses se presentan en la **tabla 3**.

3.2.2 Preparación del PRP y Procedimiento de administración

El proceso de preparación de PRP se ha descrito previamente. Se extrajo sangre venosa (72 ml) de los pacientes en tubos de 9 ml de citrato de sodio al 3,8% (p/v). Se centrifugó a 580 g durante 8 min a temperatura ambiente para recolectar la fracción de plasma de 2 ml por encima de los glóbulos rojos sedimentados; se tuvo cuidado de evitar la capa leucocitaria. El PRP se activó con cloruro de calcio al 10 % (p/v) justo antes de la infiltración.

La administración de PRP incluyó tres inyecciones diferentes en diferentes localizaciones anatómicas realizadas en quirófano. Primero se realizó una inyección de PRP IA, seguida de dos inyecciones de PRP IO, según la técnica anteriormente descrita. Se indujo la sedación del paciente con una dosis única de solución salina normal, así como una dosis única de midazolam (0,03-0,05 mg/kg) y fentanilo (3,2 mg/kg) por vía venosa periférica; también se administró una dosis única o repetida de propofol (1-2 mg/kg), según la duración de la infiltración. Se realizó una inyección IA guiada por ultrasonido utilizando una aguja de calibre 18 orientada en la misma dirección que el portal artroscópico anterolateral-distal. Con una flexión articular de 30° para facilitar la infusión de la infiltración de PRP, se inyectaron 8 mL de PRP en el espacio articular.

A continuación, bajo la guía de un fluoroscopio, se obtuvo una vista anteroposterior de la articulación de la cadera para realizar la primera inyección IO en el acetábulo. El trocar se colocó en dirección cráneo-caudal, paralelo al plano horizontal y con una inclinación de 20°. Una vez insertado el trocar en la pared lateral del acetábulo y ubicado a 1 cm de la línea articular, se inyectaron 5 mL de PRP. Finalmente, la segunda inyección IO se realizó en la cabeza femoral cuyo punto de entrada se localizó 1 cm lateral al músculo sartorial. La cabeza femoral se abordó en la unión de la cabeza y el cuello femorales, con el trocar orientado en dirección anterolateral-distal. Se introdujo el trocar 1 cm por debajo de la superficie articular y se inyectaron 5 mL de PRP. Antes de la infiltración, se recogieron 5 ml de BMA del hueso subcondral de la cabeza femoral para este estudio y se etiquetaron como "Pre" (antes del tratamiento). Durante las primeras horas tras el tratamiento se recomendó la deambulaci3n asistida con muletas y mínima carga inicial por la propia intervenci3n. Al día siguiente, el paciente podía cargar peso y tomar analgésicos (paracetamol) según requerimiento por el dolor, con actividad física limitada. Se realizó el mismo procedimiento 14 días después

del primer tratamiento, y se recolectaron otros 5 mL de BMA y se etiquetaron como 'Post' (después del tratamiento).

3.2.3 Procesamiento de muestras de aspirado de médula ósea y establecimiento de cultivos de MSC

Todas las muestras de BMA (5 ml) se procesaron como se describió anteriormente¹¹⁴. Después de la lisis de los glóbulos rojos con cloruro de amonio y después de lavar el sedimento celular dos veces con 10 ml de PBS, las células nucleadas se resuspendieron en medio para MSC (StemMACSTM MSC Expansion media, Miltenyi Biotec, Bisley, Reino Unido) en un volumen equivalente al BMA original, luego se sembró en una placa de 6 pocillos (Corning, Nueva York, NY, EE. UU.) a 750 μ L/pocillo que contenía 1 mL de medio StemMACSTM para mantener la cualidad de las MSC. Después de 48 h, los medios se cambiaron a Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) bajo en glucosa complementado con antibióticos y suero humano al 10 % (Sigma-Aldrich, Dramstadt, Alemania) para la expansión de MSC al paso 1 (P1). En estudio previos se ha demostrado que la expansión de las MSC, particularmente en medios que contienen Suero bovino fetal (FCS), afecta las características de sus colonias y los perfiles de expresión génica, mientras que el uso de suero humano conduce a una mejor conservación de sus características nativas. Se realizaron cambios de la mitad del medio dos veces por semana, y las células se tripsinizaron y expandieron cuando tenían una confluencia de aproximadamente el 60-70%. Luego, las MSC P1 se congelaron a -80 °C en alícuotas y se usaron para análisis adicionales, como se describe a continuación.

3.2.4 Ensayo de unidades formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F) y análisis de colonias.

El ensayo de CFU-F se utilizó para cuantificar las células formadoras de colonias altamente proliferativas en cultivos p1 y para comparar sus proporciones en cultivos de MSC antes y después de p1. Para el ensayo, los viales congelados se descongelaron primero y se revivieron en medio StemMACSTM sin más expansión del cultivo. Las densidades de siembra de células para el ensayo CFU-F se optimizaron utilizando 1000, 2000 y 5000 células/100 mm por placa de Petri (Corning) de tres cultivos p1 seleccionados al

azar para generar un mínimo de 30 colonias/placa para la cuantificación de colonias. En base a estos resultados de optimización, todos los cultivos de p1 restantes se sembraron a 5000 células/placa y los datos se presentaron en relación con 5000 células sembradas. En resumen, se sembraron 5000 células por duplicado en placas de Petri de 100 mm en 10 mL de medio StemMACSTM durante 48 h en una incubadora a 37 °C y 5% de CO₂. Después de 48 h, se aspiraron los medios StemMACSTM y la placa se lavó con 10 ml de PBS. Después del lavado, se agregaron 10 mL de DMEM (ThermoFisher, Waltham, MA, EE. UU.) que contenía suero humano al 10% (DMEM + HS) a cada una de las cajas de Petri y se cambió la mitad de los medios una vez por semana. El día 14, se aspiraron los medios, se fijaron las colonias con formaldehído al 3,7 % (Fisher Scientific, NewHampshire, EE. UU.) y se tiñeron con azul de metileno al 1 % (p/v) (Sigma-Aldrich). Una colonia se definió como constituida por al menos 50 células. Después de la tinción, se escanearon las placas y se contó y promedió el número de colonias, seguido de la investigación de las áreas de colonias.

Las áreas de colonias se consideran indicativas de las capacidades proliferativas de las MSC formadoras de colonias. Las imágenes escaneadas se analizaron utilizando el software ImageJ (versión 1.53q, NIH). Las imágenes se convirtieron a "escala de grises" y todas las colonias recibieron un contorno manualmente; El software calculó las áreas de las colonias en base a una escala de 100 mm (diámetro de la placa de Petri). El análisis se realizó en los cultivos Pre y Post y posteriormente se correlacionó con la edad del donante, la respuesta al tratamiento y otras mediciones de laboratorio.

3.2.5 Ensayo de senescencia

La acumulación de células senescentes, incluidas las MSC, se considera uno de los mecanismos celulares detrás de la patología de la OA. Para medir las proporciones de células senescentes en cultivos P1 Pre-MSc y Post-MSc, se realizó el ensayo histoquímico gold standard con beta-galactosidasa asociado a la senescencia (SA-β-gal). Las MSC P1 se descongelaron y se sembraron 4 × 10⁴ células de cada muestra en pocillos duplicados de una placa de 6 pocillos durante la noche para la adhesión en 1,5 ml de medio StemMACS™. Al día siguiente, se aspiró el medio y se lavaron las células en tampón fosfato salino

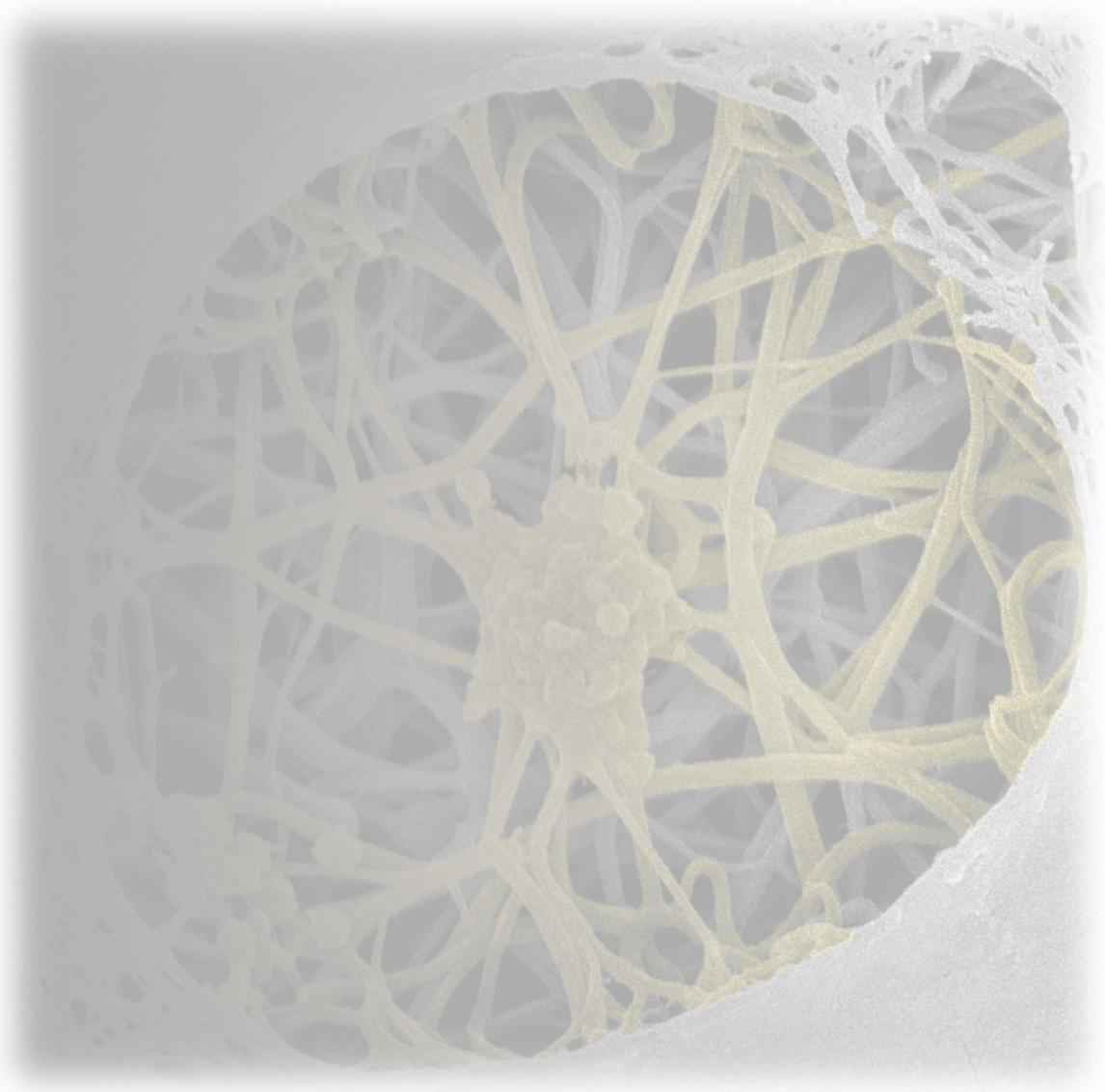
(PBS), luego se añadieron 1,5 ml de tampón de fijación a las placas y se incubaron durante 6 a 7 minutos a temperatura ambiente. A continuación, las células se enjuagaron tres veces con PBS y se tiñeron con 1 ml de la mezcla de tinción preparada según el protocolo del fabricante. A continuación, las placas se sellaron en parafilm y se incubaron a 37 °C sin CO₂ durante la noche. Al día siguiente, se observó bajo microscopía óptica la presencia de azul en las células (o células SA-β-gal positivas). Tres observadores independientes contaron un mínimo de 100 células totales/pozo; los datos se promediaron y el porcentaje de células teñidas de azul se presentó como el porcentaje del total de células contadas.

3.2.6 Expresión génica

El estudio de la expresión génica en las MSC p1 se realizó para evaluar cualquier cambio transcripcional en las células relacionado con la proliferación/senescencia, la multipotencialidad, la osteo y la condrogénesis, así como la remodelación del cartílago y el apoyo al anabolismo del cartílago. Para el estudio de expresión génica, las células p1 revividas se lisaron utilizando tampón de lisis (Norgen Biotek, Ontario, Canadá) y el lisado celular se congeló a -80 °C. Las extracciones de ARN para todas las muestras se realizaron según el protocolo del fabricante utilizando columnas proporcionadas por el fabricante. La cantidad y calidad del ARN se evaluó utilizando un espectrofotómetro Nanodrop. A continuación, el ARN se congeló a -80 °C hasta la preparación del ADN complementario (ADNc). El ADNc se preparó agregando la mezcla maestra de transcriptasa inversa (Fluidigm) a las muestras de ARN en el termociclador (5 min a 25 °C, 30 min a 42 °C, 5 min a 85 °C y luego se mantuvo a 4 °C). Al finalizar, el ADNc se preamplificó con ensayos Taqman agrupados y la mezcla de reacción de preamplificación usando un protocolo de 14 ciclos (2 min a 95 °C, 15 s a 95 °C, 4 min a 60 °C y luego a 4 °C). Finalmente, las muestras de preamplificación se agregaron al circuito de fluido integrado GeneExpressionFluidigm junto con 48 sondas Taqman y se cargaron en la plataforma Biomark según las instrucciones del fabricante. El gen HPRT1 se utilizó como gen de referencia.

3.2.7 Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron utilizando el software Graph Pad Prism (versión 9.0). Para cualquier conjunto de datos dado, la distribución gaussiana se probó primero usando las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. Se usaron pruebas pareadas (Pre versus Post) para analizar los datos cuando fue posible; de lo contrario, se usaron pruebas no paramétricas. Se utilizó la prueba de correlación de Spearman para estudiar las correlaciones con la edad de los pacientes.



4. RESULTADOS

4.1 Estudio 1: Infiltración Intrósea de Plasma Rico en Plaquetas para la Artrosis Severa de Cadera.

Treinta de los cuarenta pacientes incluidos en el estudio eran hombres (75%) y diez mujeres (25%), con una edad media de $45,63 \pm 13,08$ años (rango: 21-70 años) y un IMC medio de $25,0,30 \pm 3.08$ (19, 35e30.05). Dieciocho pacientes fueron diagnosticados de OA en estadio Tönnis II y 22 en estadio Tönnis III, sin respuesta positiva a tratamientos previos. No se encontraron diferencias significativas entre las puntuaciones basales de los pacientes con Tönnis 2 y Tönnis 3 ($p > 0,05$) (**Tabla 1**).

Tabla 1. Datos demográficos

N	40
Age, years	
Mean	45.6 ± 13.1
Range	21–70
Sex, n (%)	
Male	30 (75.0)
Female	10 (25.0)
BMI (kg/m ²)	
Mean	25.3 ± 3.0
Range	19.4–30.5
Tönnis grade n (%)	
II	18 (45.0)
III	22 (55.0)

4.1.1 Resultados a corto plazo

A los dos y seis meses después del tratamiento, los pacientes experimentaron una mejoría significativa del dolor según las puntuaciones de dolor HOOS ($p < 0,05$), dolor WOMAC ($p < 0,05$) y VAS ($p < 0,05$). Además, esta mejoría también se obtuvo en el resto de variables relacionadas con los síntomas y la función evaluadas por las escalas HOOS y WOMAC, excepto en la puntuación de rigidez WOMAC.

En cuanto al porcentaje de pacientes con MCII según la subescala de dolor HOOS, el tratamiento logró una reducción del dolor de al menos 10 puntos en el 40% de los pacientes (16 de 40) a los dos meses y en el 37,5% (15 de 40) a los seis meses.

Al comparar las puntuaciones entre los pacientes Tönnis 2 y Tönnis 3, no se encontraron diferencias significativas en los resultados ($p > 0,05$) (**Tabla 2**).

Tabla 2. Evolución de los pacientes en el tiempo

	Baseline	Two months		Six months		Twelve months	
	Score	Score	p	Score	p	Score	p
HOOS Pain	57.0 ± 16.3	63.9 ± 14.7	0.002*	63.7 ± 17.5	0.006*	67.7 ± 17.2	<0.001*
HOOS Symptoms	58.1 ± 17.1	63.6 ± 15.8	0.012*	64.3 ± 16.5	0.009*	66.5 ± 16.9	<0.001*
HOOS ADL	60.1 ± 18.4	68.4 ± 18.4	0.002*	69.1 ± 19.6	0.003*	70.7 ± 19.4	<0.001*
HOOS Sport/Rec	39.4 ± 22.4	48.9 ± 22.7	0.015*	48.6 ± 27.9	0.046*	55.6 ± 24.8	<0.001*
HOOS QOL	36.1 ± 20.6	40.9 ± 17.9	0.92	40.2 ± 20.1	0.186	42.7 ± 22.2	0.054
WOMAC Pain	64.4 ± 16.4	71.8 ± 16.7	0.003*	69.6 ± 17.0	0.033*	73.5 ± 17.2	0.001*
WOMAC Stiffness	56.6 ± 21.6	62.2 ± 15.6	0.057	62.5 ± 17.9	0.068	65.6 ± 19.8	0.003*
WOMAC Function	59.5 ± 18.9	68.4 ± 18.4	0.001*	69.1 ± 19.6	0.003*	70.5 ± 19.2	<0.001*
VAS	4.5 ± 1.4	4.0 ± 1.4	0.012*	3.6 ± 1.8	0.002*	3.4 ± 1.7	<0.001*

4.1.2 Resultados a largo plazo

Ocho pacientes abandonaron el seguimiento antes de los 12 meses, 6 de los cuales no respondieron bien al tratamiento y se les realizó una artroplastia total de cadera (el 15% de los 40 pacientes tratados). Cinco de estas 6 personas que tuvieron que ser operadas fueron diagnosticadas con Tönnis 3. Los 2 pacientes restantes que no fueron monitorizados a los 12 meses, fueron ilocalizables.

Los resultados relacionados con el dolor mostraron una mejoría significativa a los 12 meses según las escalas HOOS ($p < 0,05$), WOMAC ($p < 0,05$) y VAS ($p < 0,05$). Los pacientes también mejoraron significativamente en las variables relacionadas con la sintomatología y la función según las escalas HOOS y WOMAC (**Tabla 2**). En este caso, no hubo diferencias entre los dos grados de severidad de OA. El porcentaje de pacientes que mostró una reducción del dolor de al menos 10 puntos (mínima mejoría clínicamente relevante) desde el inicio hasta los 12 meses de seguimiento fue del 40% (16 sobre 40 pacientes). Cuando se comparan los resultados clínicos entre seguimientos, se observa una mejoría en el tiempo ya que el dolor disminuye significativamente a los 12 meses con respecto a los 6 meses según el HOOS ($p < 0,05$) y el WOMAC ($p < 0,05$) (**Figura 9**).

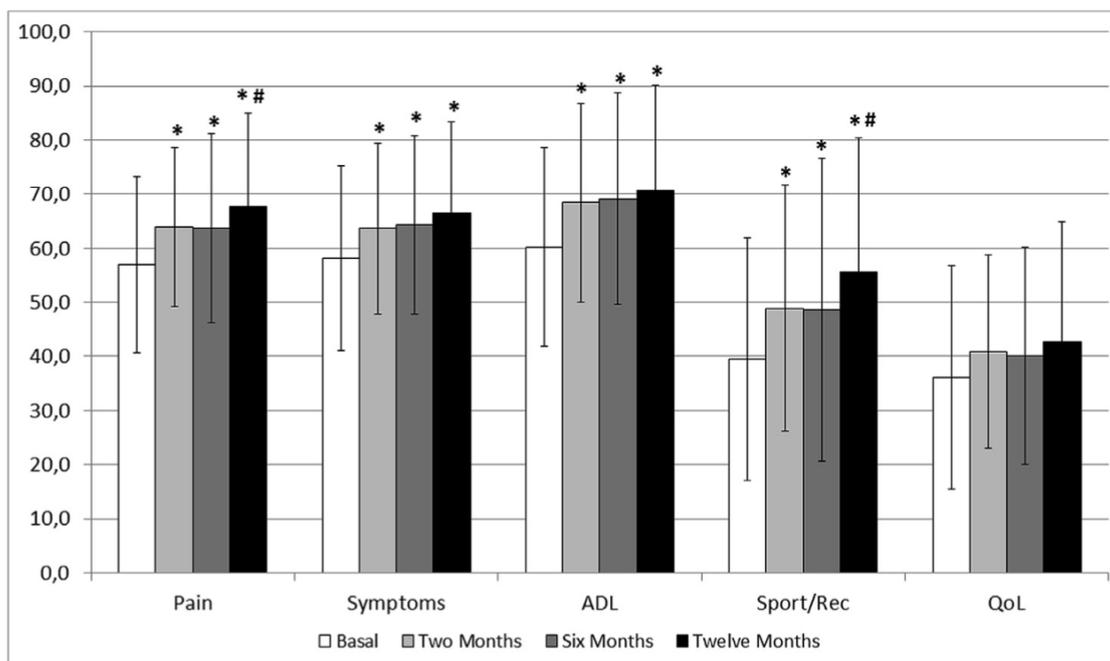


Figura 9: Puntuación HOOS al inicio, dos meses, seis meses y doce meses después del tratamiento. HOOS: escala de resultado de osteoartritis de cadera; ADL: Función en la vida diaria; Sport/Rec: función en el deporte y la recreación; QoL: Calidad de vida. *p < 0,05 respecto al nivel basal. #p < 0,05 respecto al nivel de los seis meses.

4.1.3 Seguridad

Los pacientes que se sometieron a inyecciones intraóseas no reportaron efectos secundarios y complicaciones durante el procedimiento. Tras la infiltración, la mayoría de los pacientes refieren dolor leve de corta duración (24-48 h) y sensación de pesadez sin otros efectos adversos.

4.2 Estudio 2: Efecto de las infiltraciones intraóseas e intraarticulares combinadas de plasma autólogo rico en plaquetas sobre células estromales mesenquimales de médula ósea subcondral de pacientes con artrosis de cadera

4.2.1 Características de los pacientes y respuesta al tratamiento

Doce pacientes diagnosticados con OA de cadera participaron en este estudio. De estos, cuatro eran hombres y ocho mujeres y su mediana de edad era de 59,5 años (rango 40-86). Siete de 12 pacientes respondieron bien al tratamiento y cinco pacientes se consideraron no respondedores. Entre los hombres, la tasa de respuesta fue del 50% (2/4). En mujeres, la tasa de respuesta fue del 62,5% (5/8). La puntuación de Tönnis de todos los pacientes osciló entre 2 y 3, independientemente de la respuesta al tratamiento. Cuando se dividió la cohorte en función de la edad (usando 60 años como punto de corte), la tasa de respuesta en el grupo de mayor edad fue del 66,7 % (4/6) frente al 50 % (3/6) en los pacientes más jóvenes. Hubo muy pocos pacientes con medicación concomitante. No se tomaron inhibidores de la ciclooxigenasa 2 (iCOX-2) ya que se recomienda no tomarlos durante este tratamiento con PRP (Tabla 3).

Tabla 3. Datos demográficos de los pacientes y evaluación clínica previa y posterior al tratamiento

Gender	Age, Years	Response	Tönnis	Medications
M	58	Positive	3	Unspecified treatment for arterial hypertension
F	61	Positive	2	None
F	56	Negative	3	Unspecified treatment for arterial hypertension
F	54	Negative	3	None
F	61	Positive	2	None
F	70	Positive	2	Thyroxine
M	61	Negative	2	Antihypertensives; Statins
M	40	Negative	2	None
F	55	Positive	3	None
F	64	Positive	3	None
M	56	Positive	3	Leflunomide
F	86	Negative	3	Escitalopram; Paracetamol

M: Male (hombre); F: Female (mujer)

4.2.2 Caracterización del plasma rico en plaquetas

La mediana de la concentración de plaquetas de PRP fue de $355,5 \times 10^3$ plaquetas/ μL (IC: 276 a 398), con un factor de concentración de 1,96 (IC: 1,83 a 2,14) por encima del valor inicial. Había cantidades insignificantes de glóbulos

rojos o leucocitos y el PRP se clasificó como 13-00-11 según el último sistema de codificación para estudios de PRP (**Tabla 4**).

Tabla 4. Preparación, caracterización y características de aplicación del PRP

PRP Preparation	
Blood volume taken	72 mL
Anticoagulant	Sodium citrate 3.8% (w/v)
System	Close
Centrifugation	Once, 580 g/8 min
Final PRP volume	10 mL (IO) plus 8 mL (IA)
PRP Characteristics	
PRP Type	13-00-11
MPV	10.1 fL (CI: 9.30–10.50)
Red Blood Cells	$<0.01 \times 10^6 / \mu\text{L}$
White Blood Cells	$<0.05 \times 10^6 / \mu\text{L}$
Activation	CaCl ₂ 10% (w/v)
Application Characteristics	
Formulation type	Liquid
Administration route	IO plus IA
Dosage	2 infiltrations at two weeks interval
Volume	IO: 10 mL (5 mL acetabulum + 5 mL femoral head) IA injection: 8 mL
Dose (range of platelets)	IO injection: 2.76×10^9 – 3.98×10^9 IA injection: 2.21×10^9 – 3.18×10^9
Tissue	Cartilage, synovium, subchondral bone
Pathology	Hip osteoarthritis

4.2.3 Números y características de las colonias

Los datos de colonias pareadas estaban disponibles para 10 pacientes. Al finalizar el período de cultivo de 14 días, las colonias se fijaron, tiñeron, contaron y promediaron para placas duplicadas. No hubo diferencias significativas en el número de colonias por cada 5000 células sembradas entre las MSC previas y posteriores y no se encontraron correlaciones entre las proporciones de colonias y la edad del donante para las muestras previas y posteriores.

Después del análisis del número de colonias, las áreas de colonias que son indicativas de la capacidad proliferativa de las MSC individuales se analizaron utilizando el software ImageJ, versión 1.53q, NIH, Bethesda, MD, EE. UU. En total, se analizaron 1197 colonias de las muestras Pre y 1370 colonias de las muestras Post, y se encontró que el área promedio de colonias era significativamente un 14,5 % mayor ($p < 0,0001$) en las muestras Post (mediana = $8,30 \text{ mm}^2$) en comparación con las muestras Pre (mediana = $7,74 \text{ mm}^2$). Curiosamente, se observó un aumento aún mayor (28,2 %) en las áreas de colonias en pacientes mayores (>60 años), desde una mediana de $6,87 \text{ mm}^2$ en las muestras Pre a una mediana de $8,81 \text{ mm}^2$ en las muestras Post ($p < 0,0001$). En esa misma línea, en las muestras Pre, las áreas de colonias mostraron una tendencia a la disminución en pacientes mayores, mientras que esta tendencia

ya no era evidente en las muestras Post. En conjunto, estos datos indicaron un aumento en la capacidad proliferativa de MSC después de las infiltraciones de PRP, particularmente en pacientes mayores (**Figura 10**).

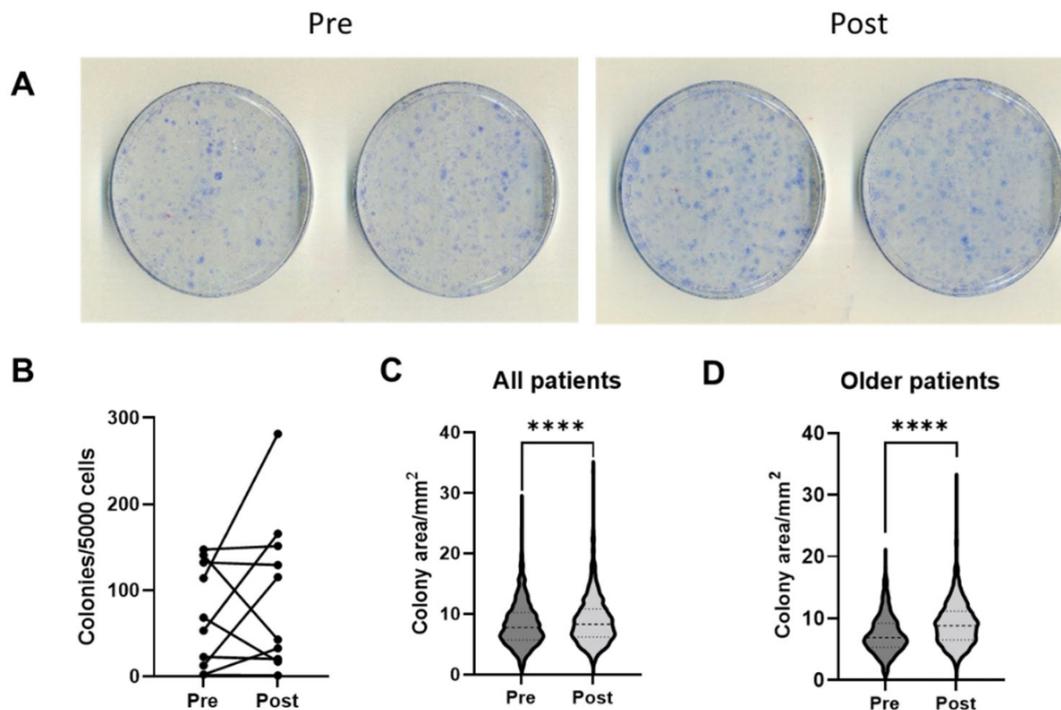


Figura 10: Capacidad de formación de colonias en MSC p1 antes (Pre) y 2 semanas después (Post) de las infiltraciones de PRP IO. (n = 10 pacientes, los símbolos representan promedios de las placas duplicadas). (A) Imágenes de placas duplicadas de un paciente representativo. (B) Frecuencias de CFU-F en las muestras Pre y Post. (C) Gráficos de violín que muestran las distribuciones del área de colonias en todos los pacientes. (D) Gráficos de violín que muestran las distribuciones del área de colonias en pacientes mayores (> 60 años). **** p < 0,0001, prueba U de Mann-Whitney.

4.2.4 Expresión del marcador de multipotencialidad de las MSC y proporción de células senescentes

A continuación, se exploraron la expresión del marcador de multipotencialidad de MSC y las proporciones de células en cultivos de p1. La expresión del gen de multipotencialidad de MSC se midió mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) para SOX9 y COMP (marcadores de condrogénesis), PPAR γ y FABP4 (marcadores de adipogénesis) y RUNX2 e IBSP (marcadores de osteogénesis). Como era de esperar, se observaron tendencias para la expresión más baja de todos los genes de multipotencialidad en pacientes mayores (> 60 años). Hubo un aumento significativo en el nivel de expresión de SOX9 en las muestras Post en pacientes más jóvenes en

comparación con las muestras Pre en los pacientes mayores. En general, estos datos indicaron que los cultivos de p1 de pacientes con OA de cadera expresaron genes de multipotencialidad de MSC, pero las infiltraciones de PRP solo inducen pequeños cambios en el nivel de su expresión.

La senescencia es la terminación de la capacidad proliferativa de las células y la acumulación de células senescentes se ha asociado estrechamente con la OA, por lo que combatir la senescencia celular representa una opción terapéutica atractiva. Por lo tanto, a continuación se investigó el nivel de senescencia en las MSC p1 para explorar cualquier efecto de las infiltraciones de PRP en el proceso de senescencia.

Inesperadamente, se encontró que las proporciones de células senescentes aumentaron significativamente en las muestras Post en comparación con las muestras Pre ($p = 0,043$), pero no en todos los pacientes. En lugar de un efecto directo de las infiltraciones de PRP, los aumentos de la senescencia en algunos pacientes podrían haber sido el resultado de un proceso de OA que progresa rápidamente en la articulación afectada. Como la senescencia está estrechamente relacionada con el avance de la edad, los datos se analizaron a continuación en función de la edad de los pacientes y, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, el aumento de células senescentes en las muestras del Post fue menos prominente en los pacientes mayores en comparación con los pacientes más jóvenes. Sobre esta base, podría formularse la hipótesis de que el tratamiento con PRP podría haber proporcionado cierto grado de "resistencia" de las MSC al proceso de senescencia impulsado por la OA, y que podría ser más efectivo en pacientes mayores.

4.2.5 Cambios en las MSCs en relación con la respuesta al tratamiento

Como se vio anteriormente, las MSC de pacientes mayores (> 60 años) parecían responder mejor al PRP, al menos en los ensayos de CFU-F y senescencia, en comparación con los pacientes más jóvenes. A continuación, se analizaron las diferencias en el comportamiento de las MSC en relación con las respuestas de los pacientes a la terapia. La respuesta se evaluó a los 6 meses después de la segunda inyección y se basó en la puntuación HOOS y el examen clínico realizado por un médico en el punto de tiempo de seguimiento de 6

meses. Siete de 12 pacientes (cuatro mayores, tres jóvenes) se consideraron buenos respondedores, los otros cinco (dos mayores, tres jóvenes) se definieron como no respondedores.

Al comparar los resultados del ensayo CFU-F entre los que respondieron y los que no respondieron, los aumentos del área de colonias fueron más prominentes en los que respondieron (aumento del 13,2 %, desde una mediana de 8,12 mm² en las muestras Pre a una mediana de 9,19 mm² en las muestras Post) en comparación a los no respondedores (aumento del 5,1%, de una mediana de 7,39 mm² en las muestras Pre a una mediana de 7,77 mm² en las muestras Post, $p < 0,0001$). Para el ensayo de senescencia, la segregación de datos entre los que respondieron y los que no respondieron indicó un menor aumento en las células senescentes en las muestras Post en los que respondieron en comparación con los que no respondieron, pero las diferencias no alcanzaron significación estadística.

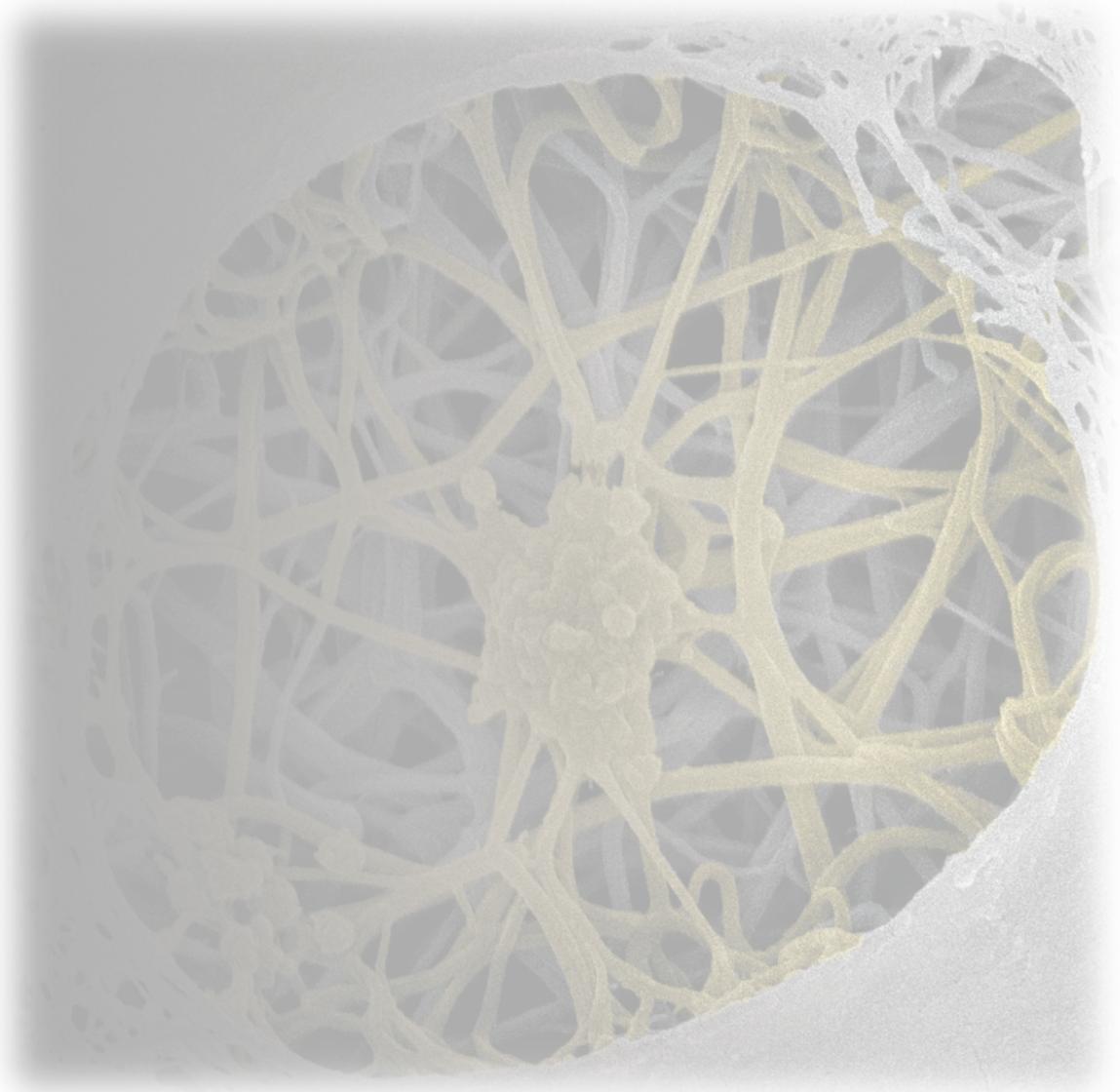
A continuación, se evaluaron los cambios en la expresión génica para los respondedores y los no respondedores (**Tabla 5**) y se analizó con más detalle cualquier gen con más de 2 veces de diferencia entre Pre y Post en cualquiera de los grupos. Cualquier gen para el que se encontró que la detección era altamente variable en el donante y muy baja (es decir, expresión detectada en menos del 50% de las muestras) se eliminó del análisis. Se pudieron identificar cuatro grupos de moléculas en base a diferentes patrones de expresión. En el grupo A (BMP2, SPP1, PTHLH), los cambios en la expresión génica en los que no respondieron fueron en la dirección opuesta a los que respondieron, un aumento de >2 veces en los que no respondieron y una disminución de >2 veces en los que respondieron. En los genes del grupo B (BGLAP, IBSP, OPG, MMP13 y ADAMTS5), se observó un patrón similar de "dirección opuesta", sin embargo, los cambios >2 veces se observaron solo en un grupo de pacientes (principalmente aumento de pacientes sin respuesta).). El comportamiento de los genes del grupo C (COL1A1, MMP2, SERPINE1, TIMP1) fue similar al de los genes del grupo B pero, a diferencia de los genes del grupo B, hubo un aumento de >2 veces en los respondedores. Finalmente, los genes del grupo D (SPARC, E11, SOX9) se redujeron >2 veces en los no respondedores pero no en los respondedores. Aunque no se pudieron encontrar diferencias estadísticamente significativas debido al pequeño tamaño de los grupos, se pudieron identificar

genes expresados diferencialmente y, curiosamente, la mayoría de estos genes pertenecían a las categorías de osteogénesis, condrogénesis y homeostasis del cartílago. En conjunto, estos datos sugieren que los cambios en la expresión del gen MSC que siguen a las infiltraciones de PRP podrían contribuir en parte a inducir respuestas tisulares articulares, además de una mejora significativa en la proliferación de MSC observada en el ensayo CFU-F.

Tabla 5. Lista de los genes con valores medianos y diferencia de veces entre las muestras previas y posteriores en los respondedores y no respondedores

Genes	Median Relative Expression Values				Fold Differences, Post/Pre	
	Pre/R	Post/R	Pre/NR	Post/NR	R	NR
<i>RUNX2</i>	0.5016	0.6905	0.5779	0.8294	1.376595	1.435196
<i>ALP</i>	0.5477	0.9033	0.3409	0.5918	1.649261	1.735993
<i>IBSP</i>	0.3944	0.05968	0.22	0.3793	0.151318	1.724091
<i>COL1A1</i>	4.653	14.38	4.677	3.967	3.090479	0.848193
<i>BGLAP</i>	1.02	0.57	0.5216	1.952	0.558824	3.742331
<i>SPP1</i>	1.001	0.1541	0.4335	1.323	0.153946	3.051903
<i>SPARC</i>	12.91	11.64	11.16	4.895	0.901627	0.43862
<i>OPG</i>	1.34	0.8102	0.4803	0.9831	0.604627	2.046846
<i>ANKH</i>	0.4462	0.5939	0.5231	0.5771	1.331017	1.103231
<i>GREM1</i>	0.555	0.9183	0.3949	1.152	1.654595	2.917194
<i>E11</i>	0.03657	0.04949	0.03373	0.01627	1.353295	0.48236
<i>BMP2</i>	0.1449	0.01558	0.005887	0.05139	0.107522	8.729404
<i>PTH1H</i>	0.3283	0.03508	0.01772	0.3664	0.106853	20.6772
<i>SOX9</i>	0.7716	0.4732	0.7836	0.2052	0.613271	0.261868
<i>COMP</i>	0.6122	0.7304	0.6867	1.027	1.193074	1.495558
<i>ACAN</i>	0.9876	1.029	0.6267	1.112	1.04192	1.774374
<i>MMP1</i>	0.1341	0.4476	0.06261	0.1486	3.337808	2.373423
<i>MMP2</i>	2.528	9.414	2.76	1.982	3.723892	0.718116
<i>MMP13</i>	0.4501	0.4859	0.3275	1.014	1.079538	3.096183
<i>ADAMTS4</i>	0.02331	0.01155	0.01217	0.03424	0.495495	2.813476
<i>SERPINE1</i>	2.658	6.356	2.449	1.942	2.391272	0.792977
<i>TIMP1</i>	7.729	20.88	6.346	5.652	2.701514	0.89064
<i>TIMP2</i>	2.32	3.828	2.023	2.37	1.65	1.171527
<i>TIMP3</i>	4.378	7.125	2.982	1.84	1.627455	0.617036
<i>PTGS2</i>	1.096	0.8219	1.066	1.071	0.749909	1.00469
<i>PPAR-γ</i>	0.431	0.6278	0.5237	0.7886	1.456613	1.505824
<i>CXCL12</i>	1.246	1.911	1.721	2.398	1.533708	1.393376
<i>VEGFA</i>	1.099	2.048	1.109	1.403	1.863512	1.265104
<i>VEGFC</i>	6.912	8.79	7.783	8.161	1.271701	1.048567
<i>PDGFRB</i>	1.009	1.253	0.6647	0.9144	1.241824	1.375658
<i>EGFR</i>	0.06623	0.08422	0.03631	0.1435	1.271629	3.952079
<i>FGFR1</i>	0.387	0.571	0.2379	0.4063	1.475452	1.70786
<i>FGFR2</i>	0.2632	0.1553	0.3359	0.3029	0.590046	0.901756
<i>TGFBR2</i>	0.4042	0.8372	0.3433	0.4072	2.071252	1.186135
<i>PTPRC</i>	0.6435	1.469	0.5147	0.6744	2.282828	1.310278
<i>NT5E</i>	1.536	1.891	1.718	2.714	1.23112	1.579744
<i>Thy1</i>	1.97	1.764	1.33	1.625	0.895431	1.221805
<i>P21</i>	1.215	1.097	1.091	0.9113	0.902881	0.835289
<i>P53</i>	0.646	0.6835	0.5047	0.5311	1.05805	1.052308
<i>P16</i>	1.705	1.359	1.483	2.114	0.797067	1.425489
<i>HPRT1</i>	1	1	1	1	1	1

R: respondedores; NR: no respondedores



5. DISCUSIÓN

La OA es una enfermedad prevalente e incapacitante, y la cadera es una de las articulaciones más afectadas por esta patología. Los tratamientos actuales solo alivian los síntomas y no detienen el curso de la enfermedad, lo que muchas veces obliga al paciente a someterse a una cirugía de reemplazo total de cadera. Los tratamientos que frenan o retardan la OA son necesarios para prevenir o retrasar la cirugía, mejorar la calidad de vida y evitar los costes económicos de esta patología^{115,116}.

Existen varios trabajos en la literatura que evalúan la acción terapéutica del PRP sobre OA de cadera. Los hallazgos de esos estudios avalan la mejoría en los pacientes tratados con infiltraciones IA de PRP, especialmente en las primeras etapas de la enfermedad, debido a que el tratamiento alivia la inflamación y el dolor^{2,113,117-120}. La tendencia de los resultados de dichos estudios muestra, de forma similar en todos ellos, una pérdida de efectividad en el resultado a largo plazo y en pacientes con artrosis en fase avanzada. Estos estudios tienen ligeras variaciones en sus procedimientos metodológicos para obtener PRP y, en consecuencia, analizan el resultado de PRPs con diferentes composiciones y características. En nuestros trabajos, el PRP utilizado presenta una concentración de plaquetas aproximadamente el doble de la concentración en sangre, y sin presencia de leucocitos¹²¹. Aunque la eficacia de diferentes tipos de PRP en las patologías musculoesqueléticas es actualmente uno de los temas más estudiados y controvertidos, se está dilucidando la elección del PRP más óptimo para el tratamiento de las patologías articulares¹²². Según estudios recientes, una concentración de plaquetas por debajo de 5 veces la concentración de plaquetas en sangre y sin leucocitos podrían ser algunas de las características ideales para su aplicación en la degeneración articular. Un número excesivo de plaquetas podría inhibir el efecto sobre la reparación tisular del PRP¹²³ así como la presencia de leucocitos ha demostrado activación de vías proinflamatorias¹²⁴. Además de las variables en la composición del PRP, también se debe considerar el método de aplicación. En lo referente a la frecuencia de las infiltraciones, en el presente trabajo, el PRP se aplicó en tres ocasiones separadas, conforme a los resultados de estudios recientes que avalan las administraciones repetidas de PRP. Estos estudios se centraron en analizar las diferencias entre una única infiltración o varias infiltraciones repetidas cada una

o dos semanas, consiguiendo una mejor respuesta clínica en pacientes que recibieron infiltraciones repetidas¹²⁵⁻¹²⁷.

En lo referente a la vía de administración hay que tener en cuenta que las infiltraciones intrarticulares solo alcanzan el espacio intraarticular de la cadera y pueden no ser efectivos en la OA grave o avanzada. La adición de infiltraciones intróseas de PRP a las infiltraciones articulares tradicionales nace de la importancia del hueso subcondral en la patogenia de la OA. Varios trabajos demuestran la existencia de comunicación entre el hueso subcondral y el cartílago por medio de vasos y canales moleculares, que aumentan en los pacientes con OA debido a cambios estructurales, característicos en esta patología, tales como microfracturas y fisuras en la unión osteocondral¹²⁸. La sinergia de todos los tejidos articulares permite el mantenimiento de la homeostasis en la cadera. Un desequilibrio en cualquiera de estas estructuras crea un círculo vicioso que conduce a la degeneración de la articulación que involucra diferentes procesos biológicos²⁸.

En comparación con las inyecciones articulares de PRP, en las que el PRP actúa principalmente sobre el cartílago y la membrana sinovial, las infiltraciones IO de PRP brindan la ventaja de un mejor acceso al hueso subcondral y la interfaz hueso-cartílago, y potencialmente se dirigen a todo el espectro de tejidos afectados por OA. La acción del PRP sobre el hueso subcondral podría restablecer el equilibrio homeostático, reducir la presencia de mediadores inflamatorios y modular el tejido fibroneurovascular aberrante propio de las patologías articulares¹⁷. Además, existe la posibilidad de una retención a largo plazo de PRP o sus componentes en los tejidos diana, en comparación con el líquido articular que probablemente intercambie sus componentes con el plasma más rápidamente durante la locomoción.

La vía de administración intraósea presenta ciertos inconvenientes, comparándola con la vía intraarticular. Se trata de técnicas con poco tiempo de evolución y cierto grado de dificultad técnica, lo que puede resultar en mayores requerimientos para el cirujano en lo que se refiere a la curva de aprendizaje. Es necesario el uso de sedación, debido a que la inyección de hueso subcondral genera un incremento de presión en el interior del hueso, lo que puede generar dolor elevado durante el procedimiento. También se recomienda el uso de control fluoroscópico para una correcta administración. Por ello es necesario formar al

equipo médico y dedicar más tiempo a este tipo de intervenciones, haciéndolas más caras que las infiltraciones convencionales en la cadera. Sin embargo, los resultados de los trabajos que aquí se presentan sugieren que los beneficios de combinar infiltraciones intraarticulares e intraóseas de PRP superan con creces las limitaciones mencionadas.

En lo referente a seguridad y eficacia, estudios recientes en artrosis de rodilla demuestran que la vía intraósea es segura y eficaz en el tratamiento de la OA de rodilla^{28,129}. Así mismo también su eficacia y seguridad ha sido demostrada en otras patologías óseas a nivel de la cadera, como es el caso de la necrosis avascular¹³⁰. Uno de los propósitos de este trabajo ha sido evaluar por primera vez la eficacia y seguridad de la administración combinada de inyecciones intraóseas e intraarticulares de PRP en pacientes con OA de cadera avanzada, siendo los resultados más importantes una mejoría en la función y los síntomas, especialmente en las puntuaciones relacionadas con el dolor, a los 2 y 6 meses después del tratamiento. Esta mejoría se mantuvo al año de recibir el tratamiento y, además, la mejoría del dolor aumentó respecto a la observada a los 6 meses.

Los mecanismos biológicos detrás de la acción del PRP y su relación con los buenos resultados clínicos siguen sin comprenderse bien, pero se cree que están relacionados tanto con la composición molecular del PRP como con factores del huésped (relacionados con el paciente)¹³¹⁻¹³³. Diferentes acciones biológicas del PRP podrían explicar la mejoría de la sintomatología. Las biomoléculas dentro del PRP como el HGF o las micropartículas plaquetarias participan en la acción antiinflamatoria relacionada con la inhibición de la vía intracelular NFκB, la cual está involucrada en los procesos proinflamatorios celulares. Así mismo aumentan la presencia del fenotipo macrófago M2, dando lugar a funciones reparadoras en lugar de una respuesta inflamatoria. El PRP también se dirige a los sistemas de cannabinoides endógenos, actuando como ligandos de los receptores de cannabinoides 1 (CB1) y 2 (CB2) debido a los cannabinoides endógenos contenidos en el PRP. Sin embargo, la efectividad parece disminuir con el tiempo y está limitada por el grado de OA que presentan los pacientes, siendo peor la respuesta en aquellos pacientes con un grado de OA más severo^{28,113,134}. La adición de inyecciones intraóseas de PRP para llegar al hueso subcondral podría ayudar a superar este inconveniente. Los resultados

del descritos en el estudio piloto mostraron una mejoría en los síntomas al menos hasta los 12 meses, especialmente en lo referido al dolor. Además, todos los pacientes reclutados presentaban OA de cadera en su estadio más avanzado y no habían respondido a otras alternativas de tratamiento conservador como infiltraciones intraarticulares de PRP; en estos pacientes, la artroplastia total de cadera era la indicación más razonable.

Otro aspecto fundamental explorado en este trabajo es el efecto del PRP sobre las MSCs del hueso subcondral. Las células mesenquimales (MSC) presentes en el hueso subcondral son uno de los elementos esenciales en el mantenimiento de este tejido, así como en el cartílago. Campbell ha demostrado un aumento del número de MSC en hueso subcondral en pacientes con OA avanzada, presentando éstas una anormal función y expresión génica⁵⁸. Además, la sobreexpresión de ciertas moléculas en el hueso subcondral como TGF- β 1 también influye negativamente en el comportamiento de las MSC. Zhen et al.⁵⁶ inhibieron la actividad de TGF- β 1 en las MSC positivas para nestina presentes en el hueso subcondral, lo que condujo a una formación ósea aberrante. Como resultado redujeron la degeneración presente en el cartílago causada por la OA. Así, la acción biológica del PRP podría modular estas células cuando se inyecta directamente en el hueso subcondral a través de la infiltración intraósea. En un estudio realizado en pacientes con artrosis de rodilla se observó una disminución del número de MSC en el líquido sinovial tras la infiltración intraósea de PRP, lo que sugiere su posible acción moduladora. Por el contrario, esta disminución no se produjo cuando se administró únicamente en el espacio intraarticular¹⁰⁹.

En este trabajo, investigamos el efecto del PRP autólogo en las MSC residentes en el sitio de la infiltración IO de PRP en pacientes con OA de cadera. Las muestras de aspirado de médula ósea se obtuvieron inmediatamente antes y 2 semanas después de la primera infiltración y las MSC se cultivaron mínimamente en medios que contenían suero humano, que se sabe que conserva mejor las características nativas de las MSC. Esto, y el hecho de que el estudio también investigó el efecto in vivo del PRP en relación con los resultados clínicos, hace que el estudio sea muy novedoso. Para estudiar los efectos del PRP en la proliferación de MSC, comparamos el número de colonias y áreas de colonias en cultivos de MSC de “pase temprano”. También

investigamos 47 transcripciones genéticas asociadas con varias funciones de MSC, incluida la osteogénesis y la remodelación ósea, la condrogénesis y la homeostasis del cartílago, la adipogénesis, el soporte de MSC para la angiogénesis, así como el ciclo celular y las moléculas relacionadas con la senescencia. Como la OA es una enfermedad relacionada con la edad y el envejecimiento está estrechamente relacionado con la senescencia celular, evaluamos los porcentajes de células senescentes en las MSC después de las infiltraciones. Finalmente, teniendo en cuenta lo primero, separamos los datos según la edad del paciente e y analizamos las repuestas clínicas para cada una de las evaluaciones realizadas, consiguiendo un análisis más detallado de los resultados.

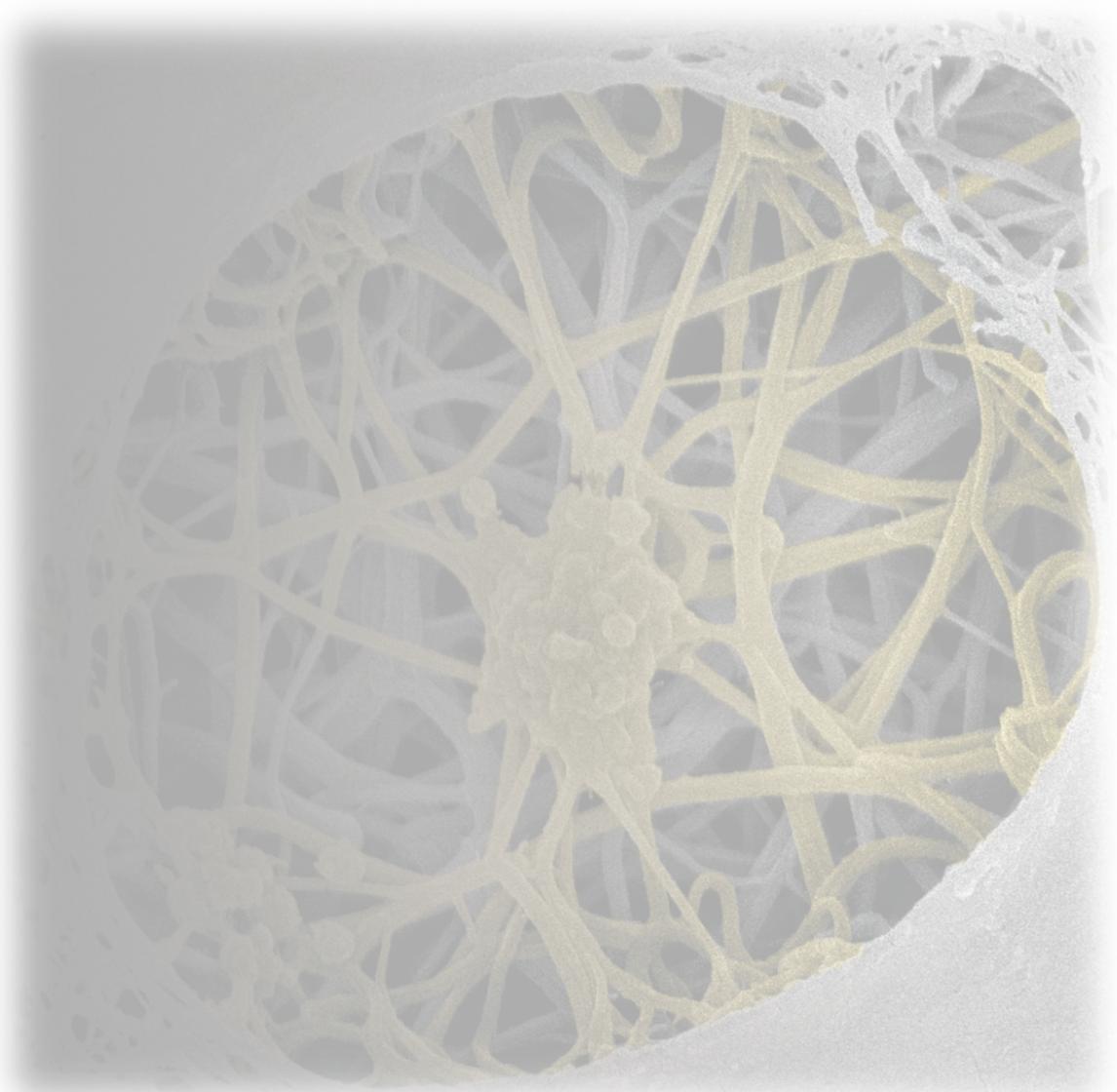
Primero investigamos cualquier cambio en las MSC a nivel de una sola célula utilizando un ensayo CFU-F¹³⁵. Si bien no encontramos diferencias significativas con respecto al número de colonias formadas en las muestras posteriores al tratamiento, se encontró que las áreas de colonias en las muestras poste-tratamiento eran significativamente más altas en comparación con las muestras pre-tratamiento. Esto es indicativo de las mayores tasas de proliferación de MSC individuales después de las infiltraciones de PRP. Estos resultados también están en línea con hallazgos de trabajos previos en los que también se encontró un aumento significativo en el área de colonias de MSC del líquido sinovial después de la cirugía de distracción de la articulación de la rodilla, otra intervención de conservación de la articulación para la OA¹³⁶. En este mismo sentido, otro estudio clínico describió una mejora de la proliferación de MSC in vivo tras inyecciones de PRP autólogo en la cresta ilíaca¹³⁷, lo que coincidió con un aumento en las concentraciones sistémicas y locales de los factores de crecimiento PDGF-BB y FGF-2, factores con efecto mitógeno para las MSC. Watt y colaboradores también demostraron un aumento en el FGF-2 local en el líquido sinovial 6 semanas después de la distracción articular¹³⁸. Si bien esto sugiere el papel potencial de FGF-2 en la mediación de este efecto, es preciso un estudio más a fondo de esta relación causa-efecto.

Cabe destacar que encontramos tasas más altas de respuesta y mejores aumentos en las áreas de colonias en pacientes de edad avanzada en comparación con todos los pacientes, lo que sugiere que, clínicamente, las MSC de los pacientes de edad avanzada podrían responder mejor a las infiltraciones

de PRP que las MSC de los pacientes más jóvenes. Esto está en línea con otro estudio anterior que investigó las respuestas de MSC de donantes jóvenes y de edad avanzada al suero humano "joven" y mostró que los aumentos del área de colonias eran más pronunciados en los donantes de edad avanzada¹³⁹. Estos hallazgos sugieren que las personas de edad avanzada podrían beneficiarse más de los tratamientos con PRP y que la administración de PRP alogénico de donante "joven" puede considerarse un paso futuro en el tratamiento de la OA. De hecho, las inyecciones IO de PRP de ratas jóvenes previnieron la degeneración ósea relacionada con la edad en ratas viejas en un estudio preclínico¹⁴⁰. Curiosamente, las MSC de donantes de edad avanzada también parecían resistir la acumulación de células senescentes mejor que las MSC de donantes más jóvenes. Aunque los datos no alcanzaron significación estadística, esto explicaría la efectividad potencialmente mejor de los tratamientos con PRP en pacientes mayores. La respuesta de las MSC tras la infiltración intraósea de PRP puede ser similar al efecto de las terapias celulares, en las que se implantan MSC de diferentes nichos con la intención de aprovechar las propiedades terapéuticas de estas células¹⁴¹. Así, la estimulación in situ de las MSC por PRP puede favorecer su "efecto terapéutico", considerando que ofrecen un proceso rentable y menos invasivo que las terapias celulares con menos limitaciones regulatorias^{142,143}.

Finalmente, cuando comparamos los datos en términos de respuesta a los tratamientos, encontramos que los aumentos del área de colonias de MSC después de las infiltraciones de PRP fueron más fuertes en los pacientes que respondieron clínicamente al tratamiento en comparación con los que no respondieron y que las MSC de los que respondieron también parecieron resistir mejor la acumulación de células senescentes en comparación con las que no respondieron, lo que sugiere que el tratamiento activó potencialmente mecanismos que ayudaron a que estas células se resistieran a volverse senescentes^{112,144}. En términos de expresión génica, las MSC de respondedores y no respondedores tendían a diferir en la expresión de genes asociados con la formación ósea y el recambio del cartílago, incluidos los marcadores de osteoblastos, las metaloproteinasas de matriz y sus inhibidores. Sin embargo, las diferencias no alcanzaron significación estadística debido al pequeño tamaño de los grupos. Si bien estas moléculas representan buenos *items* para llevar a

cabo un estudio más amplio, también se deben considerar otras vías relevantes. Por ejemplo, un estudio reciente que investigó las respuestas in vitro de macrófagos y fibroblastos sinoviales al PRP en pacientes con artrosis de rodilla demostró que las vías más afectadas por el PRP en los fibroblastos, las células de naturaleza más cercana a las MSCs, estaban relacionadas con el ciclo celular, síntesis de ADN y supervivencia celular¹⁴⁵. Por lo tanto, las investigaciones futuras deberían investigar paneles de genes más grandes, que abarquen muchos más marcadores de proliferación celular, supervivencia y apoptosis, así como evaluar muchas vías de señalización impulsadas por la inflamación que podrían activarse en las MSC de las articulaciones OA



6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dallari D, Stagni C, Rani N, et al. Ultrasound-Guided Injection of Platelet-Rich Plasma and Hyaluronic Acid, Separately and in Combination, for Hip Osteoarthritis: A Randomized Controlled Study. *Am J Sports Med*. 2016;44(3):664-671. doi:10.1177/0363546515620383
2. Bennell KL, Hunter DJ, Paterson KL. Platelet-Rich Plasma for the Management of Hip and Knee Osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 2017;19(5). doi:10.1007/S11926-017-0652-X
3. Martel-Pelletier J, Barr AJ, Cicuttini FM, et al. Osteoarthritis. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2. doi:10.1038/NRDP.2016.72
4. Lohmander LS, Roos EM. Clinical update: treating osteoarthritis. *Lancet*. 2007;370(9605):2082-2084. doi:10.1016/S0140-6736(07)61879-0
5. Fotouhi A, Maleki A, Dolati S, Aghebati-Maleki A, Aghebati-Maleki L. Platelet rich plasma, stromal vascular fraction and autologous conditioned serum in treatment of knee osteoarthritis. *Biomed Pharmacother*. 2018;104:652-660. doi:10.1016/J.BIOPHA.2018.05.019
6. Delong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. *Arthroscopy*. 2012;28(7):998-1009. doi:10.1016/J.ARTHRO.2012.04.148
7. Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Front Biosci*. 2008;13(9):3532-3548. doi:10.2741/2947
8. Buchman TG. The community of the self. *Nature*. 2002;420(6912):246-251. doi:10.1038/NATURE01260
9. Dorrell JH, Catterall A. The torn acetabular labrum. *J Bone Joint Surg Br*. 1986;68(3):400-403. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
10. Abrams G, Hart M, Takami K, et al. Effect of Capsulotomy, Capsulectomy, and Capsular Repair on Hip Stability. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. Published online 2014. doi:10.1016/j.arthro.2014.04.045
11. Hewitt JD, Glisson RR, Guilak F, Vail TP. The mechanical properties of the human hip capsule ligaments. *Journal of Arthroplasty*. Published online 2002. doi:10.1054/arth.2002.27674
12. Retchford T, Crossley KM, Grimaldi A, Kemp JL, Cowan SM. Can local muscles augment stability in the hip? A narrative literature review. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*. 2013;13(1):1-12. doi:10.1136/bjism.2009.066944
13. Babst D, Steppacher SD, Ganz R, Siebenrock KA, Tannast M. The iliocapsularis muscle: An important stabilizer in the dysplastic hip. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469(6):1728-1734. doi:10.1007/s11999-010-1705-x
14. de Sousa EB, Casado PL, Neto VM, Duarte MEL, Aguiar DP. Synovial fluid and synovial membrane mesenchymal stem cells: latest discoveries and therapeutic perspectives. *Stem Cell Res Ther*. 2014;5(5). doi:10.1186/SCRT501
15. D. Smith M. The normal synovium. *Open Rheumatol J*. 2011;5(1):100-106. doi:10.2174/1874312901105010100
16. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Padilla S. A biological therapy to osteoarthritis treatment using platelet-rich plasma. *Expert Opin Biol Ther*. 2013;13(8):1161-1172. doi:10.1517/14712598.2013.801450
17. Sánchez M, Anitua E, Delgado D, et al. A new strategy to tackle severe knee osteoarthritis: Combination of intra-articular and intraosseous injections of

- Platelet Rich Plasma. *Expert Opin Biol Ther.* 2016;16(5):627-643. doi:10.1517/14712598.2016.1157162
18. Tchetina E v. Developmental mechanisms in articular cartilage degradation in osteoarthritis. *Arthritis.* 2011;2011:1-16. doi:10.1155/2011/683970
 19. Goldring MB, Marcu KB. Cartilage homeostasis in health and rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3). doi:10.1186/AR2592
 20. Nam J, Aguda BD, Rath B, Agarwal S. Biomechanical thresholds regulate inflammation through the NF-kappaB pathway: experiments and modeling. *PLoS One.* 2009;4(4). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0005262
 21. Woodell-May JE, Sommerfeld SD. Role of Inflammation and the Immune System in the Progression of Osteoarthritis. *J Orthop Res.* 2020;38(2):253-257. doi:10.1002/JOR.24457
 22. Chow YY, Chin KY. The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Osteoarthritis. *Mediators Inflamm.* 2020;2020. doi:10.1155/2020/8293921
 23. Aspden RM, Saunders FR. Osteoarthritis as an organ disease: from the cradle to the grave. *Eur Cell Mater.* 2019;37:74-87. doi:10.22203/ECM.V037A06
 24. Zhao X, Zhao Y, Sun X, Xing Y, Wang X, Yang Q. Immunomodulation of MSCs and MSC-Derived Extracellular Vesicles in Osteoarthritis. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8. doi:10.3389/FBIOE.2020.575057
 25. Delgado D, Garate A, Vincent H, et al. Current concepts in intraosseous Platelet-Rich Plasma injections for knee osteoarthritis. *J Clin Orthop Trauma.* 2019;10(1). doi:10.1016/j.jcot.2018.09.017
 26. Scanzello CR, Goldring SR. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone.* 2012;51(2):249-257. doi:10.1016/J.BONE.2012.02.012
 27. Suri S, Walsh DA. Osteochondral alterations in osteoarthritis. *Bone.* 2012;51(2):204-211. doi:10.1016/J.BONE.2011.10.010
 28. Delgado D, Garate A, Vincent H, et al. Current concepts in intraosseous Platelet-Rich Plasma injections for knee osteoarthritis. *J Clin Orthop Trauma.* 2019;10(1):36-41. doi:10.1016/J.JCOT.2018.09.017
 29. Krasnokutsky S, Belitskaya-Lévy I, Bencardino J, et al. Quantitative magnetic resonance imaging evidence of synovial proliferation is associated with radiographic severity of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2011;63(10):2983-2991. doi:10.1002/ART.30471
 30. Yuan XL, Meng HY, Wang YC, et al. Bone-cartilage interface crosstalk in osteoarthritis: potential pathways and future therapeutic strategies. *Osteoarthritis Cartilage.* 2014;22(8):1077-1089. doi:10.1016/J.JOCA.2014.05.023
 31. de Lange-Brokaar BJE, Ioan-Facsinay A, van Osch GJVM, et al. Synovial inflammation, immune cells and their cytokines in osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012;20(12):1484-1499. doi:10.1016/J.JOCA.2012.08.027
 32. Wu CL, Harasymowicz NS, Klimak MA, Collins KH, Guilak F. The role of macrophages in osteoarthritis and cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage.* 2020;28(5):544-554. doi:10.1016/J.JOCA.2019.12.007
 33. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity.* 2016;44(3):450-462. doi:10.1016/J.IMMUNI.2016.02.015
 34. Oishi Y, Manabe I. Macrophages in inflammation, repair and regeneration. *Int Immunol.* 2018;30(11):511-528. doi:10.1093/INTIMM/DXY054

35. Hu T, Xu H, Wang C, Qin H, An Z. Magnesium enhances the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells by inhibiting activated macrophage-induced inflammation. *Sci Rep*. 2018;8(1). doi:10.1038/S41598-018-21783-2
36. Samavedi S, Diaz-Rodriguez P, Erndt-Marino JD, Hahn MS. A Three-Dimensional Chondrocyte-Macrophage Coculture System to Probe Inflammation in Experimental Osteoarthritis. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(3-4):101-114. doi:10.1089/TEN.TEA.2016.0007
37. Utomo L, Bastiaansen-Jenniskens YM, Verhaar JAN, van Osch GJVM. Cartilage inflammation and degeneration is enhanced by pro-inflammatory (M1) macrophages in vitro, but not inhibited directly by anti-inflammatory (M2) macrophages. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016;24(12):2162-2170. doi:10.1016/J.JOCA.2016.07.018
38. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine*. 2015;74(1):5-17. doi:10.1016/J.CYTO.2014.09.011
39. Labinsky H, Panipinto PM, Ly KA, et al. Multiparameter Analysis Identifies Heterogeneity in Knee Osteoarthritis Synovial Responses. *Arthritis Rheumatol*. 2020;72(4):598-608. doi:10.1002/ART.41161
40. Li Y sheng, Luo W, Zhu SA, Lei GH. T Cells in Osteoarthritis: Alterations and Beyond. *Front Immunol*. 2017;8(MAR). doi:10.3389/FIMMU.2017.00356
41. Bommireddy R, Doetschman T. TGFbeta1 and Treg cells: alliance for tolerance. *Trends Mol Med*. 2007;13(11):492-501. doi:10.1016/J.MOLMED.2007.08.005
42. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*. 2003;299(5609):981-985. doi:10.1126/SCIENCE.1079490
43. Peter J, Sabu V, Aswathy IS, et al. Dietary amaranths modulate the immune response via balancing Th1/Th2 and Th17/Treg response in collagen-induced arthritis. *Mol Cell Biochem*. 2020;472(1-2):57-66. doi:10.1007/S11010-020-03783-X
44. Min HK, Choi J, Lee SY, et al. Protein inhibitor of activated STAT3 reduces peripheral arthritis and gut inflammation and regulates the Th17/Treg cell imbalance via STAT3 signaling in a mouse model of spondyloarthritis. *J Transl Med*. 2019;17(1). doi:10.1186/S12967-019-1774-X
45. Yang Y, Zhang X, Xu M, Wu X, Zhao F, Zhao C. Quercetin attenuates collagen-induced arthritis by restoration of Th17/Treg balance and activation of Heme Oxygenase 1-mediated anti-inflammatory effect. *Int Immunopharmacol*. 2018;54:153-162. doi:10.1016/J.INTIMP.2017.11.013
46. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. 2014;13(6):668-677. doi:10.1016/J.AUTREV.2013.12.004
47. Zhu W, Zhang X, Jiang Y, et al. Alterations in peripheral T cell and B cell subsets in patients with osteoarthritis. *Clin Rheumatol*. 2020;39(2):523-532. doi:10.1007/S10067-019-04768-Y
48. Mödinger Y, Rapp AE, Vikman A, et al. Reduced Terminal Complement Complex Formation in Mice Manifests in Low Bone Mass and Impaired Fracture Healing. *Am J Pathol*. 2019;189(1):147-161. doi:10.1016/J.AJPATH.2018.09.011

49. Ozeki N, Muneta T, Koga H, et al. Not single but periodic injections of synovial mesenchymal stem cells maintain viable cells in knees and inhibit osteoarthritis progression in rats. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016;24(6):1061-1070. doi:10.1016/J.JOCA.2015.12.018
50. Zhao L, Chen S, Yang P, Cao H, Li L. The role of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation: prevention and treatment of graft-versus-host disease. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1). doi:10.1186/S13287-019-1287-9
51. de Castro LL, Lopes-Pacheco M, Weiss DJ, Cruz FF, Rocco PRM. Current understanding of the immunosuppressive properties of mesenchymal stromal cells. *J Mol Med (Berl)*. 2019;97(5). doi:10.1007/S00109-019-01776-Y
52. Guillaumat-Prats R, Camprubí-Rimblas M, Bringué J, Tantinyà N, Artigas A. Cell therapy for the treatment of sepsis and acute respiratory distress syndrome. *Ann Transl Med*. 2017;5(22). doi:10.21037/ATM.2017.08.28
53. Tomchuck SL, Zwezdaryk KJ, Coffelt SB, Waterman RS, Danka ES, Scandurro AB. Toll-like receptors on human mesenchymal stem cells drive their migration and immunomodulating responses. *Stem Cells*. 2008;26(1):99-107. doi:10.1634/STEMCELLS.2007-0563
54. Ayala-Cuellar AP, Kang JH, Jeung EB, Choi KC. Roles of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration and Immunomodulation. *Biomol Ther (Seoul)*. 2019;27(1):25-33. doi:10.4062/BIOMOLTHER.2017.260
55. Kalluri R, LeBleu VS. The biology , function , and biomedical applications of exosomes. *Science*. 2020;367(6478). doi:10.1126/SCIENCE.AAU6977
56. Zhen G, Wen C, Jia X, et al. Inhibition of TGF- β signaling in mesenchymal stem cells of subchondral bone attenuates osteoarthritis. *Nat Med*. 2013;19(6):704-712. doi:10.1038/NM.3143
57. Harris Q, Seto J, O'Brien K, et al. Monocyte chemotactic protein-1 inhibits chondrogenesis of synovial mesenchymal progenitor cells: an in vitro study. *Stem Cells*. 2013;31(10):2253-2265. doi:10.1002/STEM.1477
58. Campbell TM, Churchman SM, Gomez A, et al. Mesenchymal Stem Cell Alterations in Bone Marrow Lesions in Patients With Hip Osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(7):1648-1659. doi:10.1002/ART.39622
59. Barry F, Murphy M. Mesenchymal stem cells in joint disease and repair. *Nat Rev Rheumatol*. 2013;9(10):584-594. doi:10.1038/NRRHEUM.2013.109
60. Ganguly P, El-Jawhari JJ, Giannoudis P v., Burska AN, Ponchel F, Jones EA. Age-related Changes in Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells: A Potential Impact on Osteoporosis and Osteoarthritis Development. *Cell Transplant*. 2017;26(9):1520-1529. doi:10.1177/0963689717721201
61. Sánchez M, Anitua E, Delgado D, et al. A new strategy to tackle severe knee osteoarthritis: Combination of intra-articular and intraosseous injections of Platelet Rich Plasma. *Expert Opin Biol Ther*. 2016;16(5):627-643. doi:10.1517/14712598.2016.1157162
62. Chahla J, Mandelbaum BR. Biological Treatment for Osteoarthritis of the Knee: Moving from Bench to Bedside-Current Practical Concepts. *Arthroscopy*. 2018;34(5):1719-1729. doi:10.1016/J.ARTHRO.2018.01.048

63. Delgado D, Garate A, Vincent H, et al. Current concepts in intraosseous Platelet-Rich Plasma injections for knee osteoarthritis. *J Clin Orthop Trauma*. 2019;10(1):36-41. doi:10.1016/j.jcot.2018.09.017
64. Metcalf KB, Mandelbaum BR, Mcllwraith CW. Application of Platelet-Rich Plasma to Disorders of the Knee Joint. *Cartilage*. 2013;4(4):295-312. doi:10.1177/1947603513487553
65. Castillo TN, Pouliot MA, Hyeon Joo Kim, Dragoo JL. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med*. 2011;39(2):266-271. doi:10.1177/0363546510387517
66. Rodeo S. The Need for Minimum Reporting Standards for Studies of “Biologics” in Sports Medicine. *Am J Sports Med*. 2019;47(11):2531-2532. doi:10.1177/0363546519872219
67. Giusti I, D’Ascenzo S, Mancò A, et al. Platelet concentration in platelet-rich plasma affects tenocyte behavior in vitro. *Biomed Res Int*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/630870
68. Xu Z, Yin W, Zhang Y, et al. Comparative evaluation of leukocyte- and platelet-rich plasma and pure platelet-rich plasma for cartilage regeneration. *Sci Rep*. 2017;7. doi:10.1038/SREP43301
69. Kreuz PC, Krüger JP, Metzloff S, et al. Platelet-Rich Plasma Preparation Types Show Impact on Chondrogenic Differentiation, Migration, and Proliferation of Human Subchondral Mesenchymal Progenitor Cells. *Arthroscopy*. 2015;31(10):1951-1961. doi:10.1016/J.ARTHRO.2015.03.033
70. Chahla J, Cinque ME, Piuze NS, et al. A Call for Standardization in Platelet-Rich Plasma Preparation Protocols and Composition Reporting: A Systematic Review of the Clinical Orthopaedic Literature. *J Bone Joint Surg Am*. 2017;99(20):1769-1779. doi:10.2106/JBJS.16.01374
71. Mautner K, Malanga GA, Smith J, et al. A call for a standard classification system for future biologic research: the rationale for new PRP nomenclature. *PM R*. 2015;7(4 Suppl):S53-S59. doi:10.1016/J.PMRJ.2015.02.005
72. Magalon J, Chateau AL, Bertrand B, et al. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ Open Sport Exerc Med*. 2016;2(1). doi:10.1136/BMJSEM-2015-000060
73. Lana JFSD, Purita J, Paulus C, et al. Contributions for classification of platelet rich plasma - proposal of a new classification: MARSPILL. *Regenerative Med*. 2017;12(5):565-574. doi:10.2217/RME-2017-0042
74. Kon E, di Matteo B, Delgado D, et al. Platelet-rich plasma for the treatment of knee osteoarthritis: an expert opinion and proposal for a novel classification and coding system. *Expert Opin Biol Ther*. 2020;20(12). doi:10.1080/14712598.2020.1798925
75. Anitua E, Sánchez M, Prado R, Orive G. The type of platelet-rich plasma may influence the safety of the approach. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2014;22(7):1708-1709. doi:10.1007/S00167-012-2043-1
76. Bovine thrombin: history, use, and risk in the surgical patient - PubMed. Accessed December 10, 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18544303/>

77. Tohidnezhad M, Wruck CJ, Slowik A, et al. Role of platelet-released growth factors in detoxification of reactive oxygen species in osteoblasts. *Bone*. 2014;65:9-17. doi:10.1016/J.BONE.2014.04.029
78. Landesberg R, Moses M, Karpatkin M. Risks of using platelet rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg*. 1998;56(9):1116-1117. doi:10.1016/S0278-2391(98)90286-5
79. Tidball JG. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;288(2). doi:10.1152/AJPREGU.00454.2004
80. Assirelli E, Filardo G, Mariani E, et al. Effect of two different preparations of platelet-rich plasma on synoviocytes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2015;23(9):2690-2703. doi:10.1007/S00167-014-3113-3
81. Kreuz PC, Krüger JP, Metzlaß S, et al. Platelet-Rich Plasma Preparation Types Show Impact on Chondrogenic Differentiation, Migration, and Proliferation of Human Subchondral Mesenchymal Progenitor Cells. *Arthroscopy*. 2015;31(10):1951-1961. doi:10.1016/J.ARTHRO.2015.03.033
82. Cavallo C, Filardo G, Mariani E, et al. Comparison of platelet-rich plasma formulations for cartilage healing: an in vitro study. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(5):423-429. doi:10.2106/JBJS.M.00726
83. Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost*. 2011;105 Suppl 1(SUPPL. 1):13-33. doi:10.1160/THS10-11-0720
84. Anitua E, Prado R, Azkargorta M, et al. High-throughput proteomic characterization of plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret)-derived fibrin clot interactome. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015;9(11):E1-E12. doi:10.1002/TERM.1721
85. Martino MM, Briquez PS, Güç E, et al. Growth factors engineered for super-affinity to the extracellular matrix enhance tissue healing. *Science*. 2014;343(6173):885-888. doi:10.1126/SCIENCE.1247663
86. Anitua E, Zalduendo MM, Prado R, Alkhraisat MH, Orive G. Morphogen and proinflammatory cytokine release kinetics from PRGF-Endoret fibrin scaffolds: evaluation of the effect of leukocyte inclusion. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103(3):1011-1020. doi:10.1002/JBM.A.35244
87. van Buul GM, Koevoet WLM, Kops N, et al. Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes. *Am J Sports Med*. 2011;39(11):2362-2370. doi:10.1177/0363546511419278
88. Bendinelli P, Matteucci E, Dogliotti G, et al. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: mechanisms of NF-κB inhibition via HGF. *J Cell Physiol*. 2010;225(3):757-766. doi:10.1002/JCP.22274
89. Anitua E, Zalduendo M, Troya M, Padilla S, Orive G. Leukocyte inclusion within a platelet rich plasma-derived fibrin scaffold stimulates a more pro-inflammatory environment and alters fibrin properties. *PLoS One*. 2015;10(3). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0121713
90. Coudriet GM, He J, Trucco M, Mars WM, Piganelli JD. Hepatocyte growth factor modulates interleukin-6 production in bone marrow derived macrophages: implications for inflammatory mediated diseases. *PLoS One*. 2010;5(11). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0015384
91. Huang G, Hua S, Yang T, Ma J, Yu W, Chen X. Platelet-rich plasma shows beneficial effects for patients with knee osteoarthritis by suppressing

- inflammatory factors. *Exp Ther Med*. 2018;15(3):3096-3102.
doi:10.3892/ETM.2018.5794
92. Vasina EM, Cauwenberghs S, Feijge MAH, Heemskerk JWM, Weber C, Koenen RR. Microparticles from apoptotic platelets promote resident macrophage differentiation. *Cell Death Dis*. 2011;2(9). doi:10.1038/CDDIS.2011.94
93. Khatab S, van Buul GM, Kops N, et al. Intra-articular Injections of Platelet-Rich Plasma Releasate Reduce Pain and Synovial Inflammation in a Mouse Model of Osteoarthritis. *Am J Sports Med*. 2018;46(4):977-986.
doi:10.1177/0363546517750635
94. Lepetsos P, Papavassiliou AG. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(4):576-591.
doi:10.1016/J.BBADIS.2016.01.003
95. Luz-Crawford P, Djouad F, Toupet K, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Interleukin 1 Receptor Antagonist Promotes Macrophage Polarization and Inhibits B Cell Differentiation. *Stem Cells*. 2016;34(2):483-492.
doi:10.1002/STEM.2254
96. Tohidnezhad M, Wruck CJ, Slowik A, et al. Role of platelet-released growth factors in detoxification of reactive oxygen species in osteoblasts. *Bone*. 2014;65:9-17. doi:10.1016/J.BONE.2014.04.029
97. O'Brien D, Kia C, Beebe R, et al. Evaluating the Effects of Platelet-Rich Plasma and Amniotic Viscous Fluid on Inflammatory Markers in a Human Coculture Model for Osteoarthritis. *Arthroscopy*. 2019;35(8):2421-2433.
doi:10.1016/J.ARTHRO.2019.03.021
98. Ulmann L, Hirbec H, Rassendren F. P2X4 receptors mediate PGE2 release by tissue-resident macrophages and initiate inflammatory pain. *EMBO J*. 2010;29(14):2290-2300. doi:10.1038/EMBOJ.2010.126
99. Descalzi F, Ulivi V, Cancedda R, et al. Platelet-rich plasma exerts antinociceptive activity by a peripheral endocannabinoid-related mechanism. *Tissue Eng Part A*. 2013;19(19-20):2120-2129. doi:10.1089/TEN.TEA.2012.0557
100. Richardson D, Pearson RG, Kurian N, et al. Characterisation of the cannabinoid receptor system in synovial tissue and fluid in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(2). doi:10.1186/AR2401
101. Corvelli M, Che B, Saeui C, Singh A, Elisseeff J. Biodynamic performance of hyaluronic acid versus synovial fluid of the knee in osteoarthritis. *Methods*. 2015;84:90-98. doi:10.1016/J.YMETH.2015.03.019
102. Nicholls M, Manjoo A, Shaw P, Niazi F, Rosen J. A Comparison Between Rheological Properties of Intra-articular Hyaluronic Acid Preparations and Reported Human Synovial Fluid. *Adv Ther*. 2018;35(4):523-530.
doi:10.1007/S12325-018-0688-Y
103. Gilbertie JM, Long JM, Schubert AG, Berglund AK, Schaer TP, Schnabel L v. Pooled Platelet-Rich Plasma Lysate Therapy Increases Synoviocyte Proliferation and Hyaluronic Acid Production While Protecting Chondrocytes From Synoviocyte-Derived Inflammatory Mediators. *Front Vet Sci*. 2018;5(JUL). doi:10.3389/FVETS.2018.00150
104. Cavallo C, Filardo G, Mariani E, et al. Comparison of platelet-rich plasma formulations for cartilage healing: an in vitro study. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(5):423-429. doi:10.2106/JBJS.M.00726

105. Anitua E, Sanchez M, de la Fuente M, Zalduendo MM, Orive G. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates tendon and synovial fibroblasts migration and improves the biological properties of hyaluronic acid. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20(9):1657-1665. doi:10.1007/S00167-011-1697-4
106. Sakata R, McNary SM, Miyatake K, et al. Stimulation of the superficial zone protein and lubrication in the articular cartilage by human platelet-rich plasma. *Am J Sports Med.* 2015;43(6):1467-1473. doi:10.1177/0363546515575023
107. Fice MP, Miller JC, Christian R, et al. The Role of Platelet-Rich Plasma in Cartilage Pathology: An Updated Systematic Review of the Basic Science Evidence. *Arthroscopy.* 2019;35(3):961-976.e3. doi:10.1016/J.ARTHRO.2018.10.125
108. Caplan AI. Adult Mesenchymal Stem Cells: When, Where, and How. *Stem Cells Int.* 2015;2015. doi:10.1155/2015/628767
109. Muiños-López E, Delgado D, Sánchez P, et al. Modulation of Synovial Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells by Intra-Articular and Intraosseous Platelet Rich Plasma Administration. *Stem Cells Int.* 2016;2016. doi:10.1155/2016/1247950
110. Krüger JP, Hondke S, Endres M, Pruss A, Siclari A, Kaps C. Human platelet-rich plasma stimulates migration and chondrogenic differentiation of human subchondral progenitor cells. *J Orthop Res.* 2012;30(6):845-852. doi:10.1002/JOR.22005
111. Hildner F, Eder MJ, Hofer K, et al. Human platelet lysate successfully promotes proliferation and subsequent chondrogenic differentiation of adipose-derived stem cells: a comparison with articular chondrocytes. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015;9(7):808-818. doi:10.1002/TERM.1649
112. Liu HY, Huang CF, Lin TC, et al. Delayed animal aging through the recovery of stem cell senescence by platelet rich plasma. *Biomaterials.* 2014;35(37):9767-9776. doi:10.1016/J.BIOMATERIALS.2014.08.034
113. Sánchez M, Guadilla J, Fiz N, Andia I. Ultrasound-guided platelet-rich plasma injections for the treatment of osteoarthritis of the hip. *Rheumatology (Oxford).* 2012;51(1):144-150. doi:10.1093/RHEUMATOLOGY/KER303
114. Fragkakis EM, El-Jawhari JJ, Dunsmuir RA, et al. Vertebral body versus iliac crest bone marrow as a source of multipotential stromal cells: Comparison of processing techniques, tri-lineage differentiation and application on a scaffold for spine fusion. *PLoS One.* 2018;13(5). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0197969
115. Aresti N, Kassam J, Nicholas N, Achan P. Hip osteoarthritis. *BMJ.* 2016;354. doi:10.1136/BMJ.I3405
116. Xie F, Kovic B, Jin X, He X, Wang M, Silvestre C. Economic and Humanistic Burden of Osteoarthritis: A Systematic Review of Large Sample Studies. *Pharmacoeconomics.* 2016;34(11):1087-1100. doi:10.1007/S40273-016-0424-X
117. Dallari D, Stagni C, Rani N, et al. Ultrasound-Guided Injection of Platelet-Rich Plasma and Hyaluronic Acid, Separately and in Combination, for Hip Osteoarthritis: A Randomized Controlled Study. *Am J Sports Med.* 2016;44(3):664-671. doi:10.1177/0363546515620383
118. Battaglia M, Guaraldi F, Vannini F, et al. Efficacy of ultrasound-guided intra-articular injections of platelet-rich plasma versus hyaluronic acid for hip osteoarthritis. *Orthopedics.* 2013;36(12). doi:10.3928/01477447-20131120-13

119. di Sante L, Villani C, Santilli V, et al. Intra-articular hyaluronic acid vs platelet-rich plasma in the treatment of hip osteoarthritis. *Med Ultrason*. 2016;18(4):463-468. doi:10.11152/MU-874
120. Doria C, Mosele GR, Caggiari G, Puddu L, Ciurlia E. Treatment of Early Hip Osteoarthritis: Ultrasound-Guided Platelet Rich Plasma versus Hyaluronic Acid Injections in a Randomized Clinical Trial. *Joints*. 2017;5(3):152-155. doi:10.1055/S-0037-1605584
121. Delong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. *Arthroscopy*. 2012;28(7):998-1009. doi:10.1016/J.ARTHRO.2012.04.148
122. Riboh JC, Saltzman BM, Yanke AB, Fortier L, Cole BJ. Effect of Leukocyte Concentration on the Efficacy of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Knee Osteoarthritis. *Am J Sports Med*. 2016;44(3):792-800. doi:10.1177/0363546515580787
123. Milants C, Bruyère O, Kaux JF. Responders to Platelet-Rich Plasma in Osteoarthritis: A Technical Analysis. *Biomed Res Int*. 2017;2017. doi:10.1155/2017/7538604
124. Xu Z, Yin W, Zhang Y, et al. Comparative evaluation of leukocyte- and platelet-rich plasma and pure platelet-rich plasma for cartilage regeneration. *Sci Rep*. 2017;7. doi:10.1038/SREP43301
125. Görmeli G, Görmeli CA, Ataoglu B, Çolak C, Aslantürk O, Ertem K. Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2017;25(3):958-965. doi:10.1007/S00167-015-3705-6
126. Kavadar G, Demircioglu DT, Celik MY, Emre TY. Effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of moderate knee osteoarthritis: a randomized prospective study. *J Phys Ther Sci*. 2015;27(12):3863-3867. doi:10.1589/JPTS.27.3863
127. Tavassoli M, Janmohammadi N, Hosseini A, Khafri S, Esmaeilnejad-Ganji SM. Single- and double-dose of platelet-rich plasma versus hyaluronic acid for treatment of knee osteoarthritis: A randomized controlled trial. *World J Orthop*. 2019;10(9):310-326. doi:10.5312/wjo.v10.i9.310
128. Goldring SR, Goldring MB. Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: structure, function and cartilage-bone crosstalk. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(11):632-644. doi:10.1038/NRRHEUM.2016.148
129. Betzler BK, Chee YYJ, bin Abd Razak HR. Intraosseous Injections Are Safe And Effective in Knee Osteoarthritis: A Systematic Review. *Arthrosc Sports Med Rehabil*. 2021;3(5):e1557-e1567. doi:10.1016/j.asmr.2021.06.006
130. Guadilla J, Fiz N, Andia I, Sánchez M. Arthroscopic management and platelet-rich plasma therapy for avascular necrosis of the hip. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012;20(2):393-398. doi:10.1007/S00167-011-1587-9
131. Zahir H, Dehghani B, Yuan X, et al. In vitro responses to platelet-rich-plasma are associated with variable clinical outcomes in patients with knee osteoarthritis. *Scientific Reports* 2021 11:1. 2021;11(1):1-13. doi:10.1038/s41598-021-90174-x
132. Andia I, Atilano L, Maffulli N. Moving toward targeting the right phenotype with the right platelet-rich plasma (PRP) formulation for knee osteoarthritis.

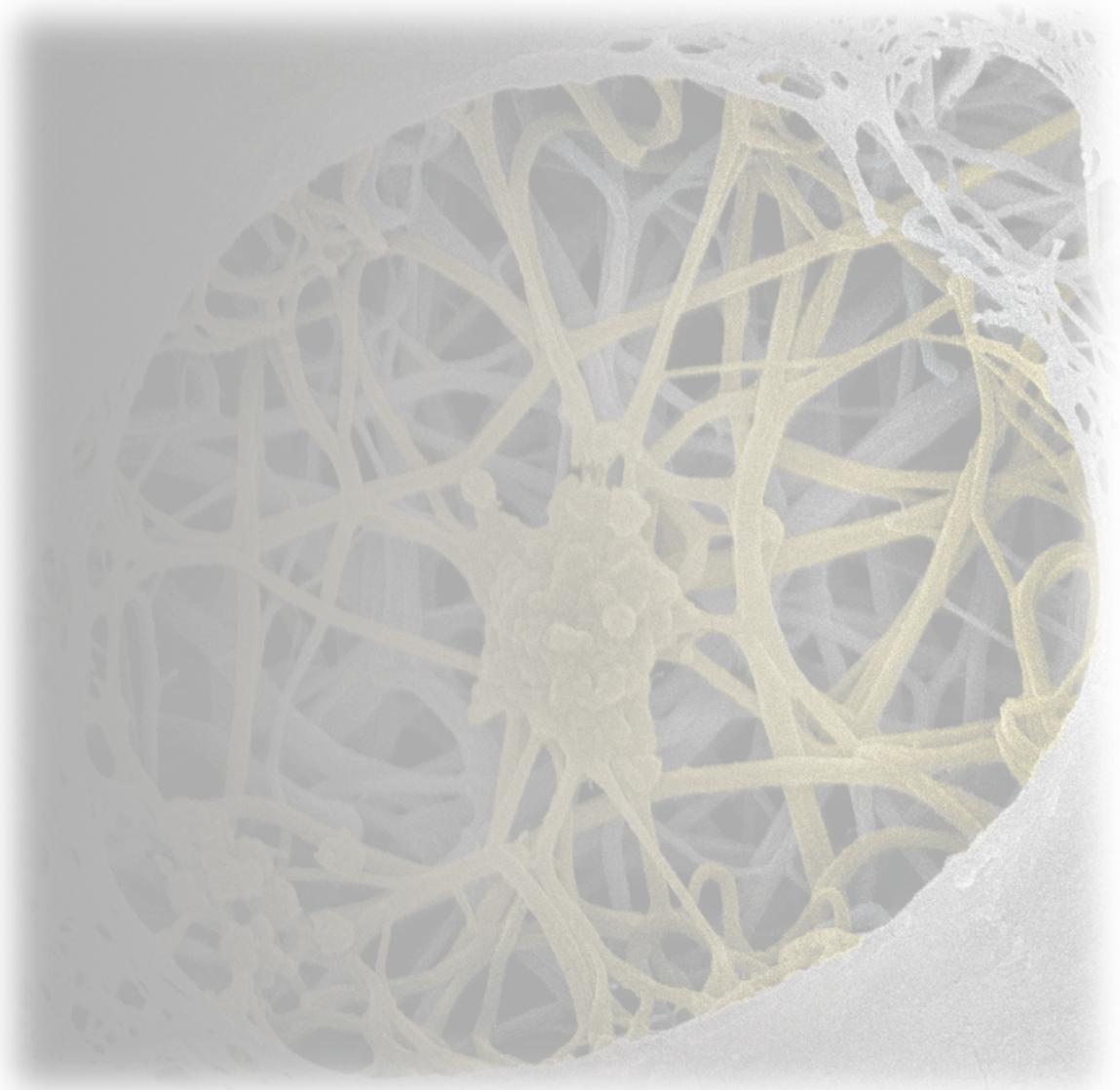
- <https://doi.org/10.1177/1759720X211004336>. 2021;13.
doi:10.1177/1759720X211004336
133. Paterson KL, Hunter DJ, Metcalf BR, et al. Efficacy of intra-articular injections of platelet-rich plasma as a symptom- and disease-modifying treatment for knee osteoarthritis - The RESTORE trial protocol. *BMC Musculoskelet Disord*. 2018;19(1):1-11. doi:10.1186/S12891-018-2205-5/TABLES/1
 134. Sánchez M, Jorquera C, de Dicastillo LL, et al. Real-world evidence to assess the effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of knee degenerative pathology: a prospective observational study. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2022;14. doi:10.1177/1759720X221100304
 135. Gothard D, Dawson JI, Oreffo ROC. Assessing the potential of colony morphology for dissecting the CFU-F population from human bone marrow stromal cells. *Cell and Tissue Research* 2013 352:2. 2013;352(2):237-247. doi:10.1007/S00441-013-1564-3
 136. Sanjurjo-Rodriguez C, Altaie A, Mastbergen S, et al. Gene Expression Signatures of Synovial Fluid Multipotent Stromal Cells in Advanced Knee Osteoarthritis and Following Knee Joint Distraction. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8. doi:10.3389/FBIOE.2020.579751
 137. Philippart P, Meuleman N, Stamatopoulos B, et al. In Vivo Production of Mesenchymal Stromal Cells After Injection of Autologous Platelet-Rich Plasma Activated by Recombinant Human Soluble Tissue Factor in the Bone Marrow of Healthy Volunteers. <https://home.liebertpub.com/tea>. 2013;20(1-2):160-170. doi:10.1089/TEN.TEA.2013.0244
 138. Watt FE, Hamid B, Garriga C, et al. The molecular profile of synovial fluid changes upon joint distraction and is associated with clinical response in knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2020;28(3):324-333. doi:10.1016/J.JOCA.2019.12.005/ATTACHMENT/78A33E34-7A0E-4B4B-B626-7B52711C6AC4/MMC2.PDF
 139. Ganguly P, El-Jawhari JJ, Burska AN, Ponchel F, Giannoudis P v., Jones EA. The Analysis of In Vivo Aging in Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells Using Colony-Forming Unit-Fibroblast Assay and the CD45lowCD271+ Phenotype. *Stem Cells Int*. 2019;2019. doi:10.1155/2019/5197983
 140. Delgado D, Garate A, Sánchez P, et al. Biological and structural effects after intraosseous infiltrations of age-dependent platelet-rich plasma: An in vivo study. *Journal of Orthopaedic Research®*. 2020;38(9):1931-1941. doi:10.1002/JOR.24646
 141. Bolia IK, Bougioukli S, Hill WJ, et al. Clinical Efficacy of Bone Marrow Aspirate Concentrate Versus Stromal Vascular Fraction Injection in Patients With Knee Osteoarthritis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Sports Med*. 2022;50(5):1451-1461. doi:10.1177/03635465211014500
 142. El-Kadiry AEH, Rafei M, Shammaa R. Cell Therapy: Types, Regulation, and Clinical Benefits. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8. doi:10.3389/FMED.2021.756029
 143. Mousaei Ghasroldasht M, Seok J, Park HS, Liakath Ali FB, Al-Hendy A. Stem Cell Therapy: From Idea to Clinical Practice. *Int J Mol Sci*. 2022;23(5). doi:10.3390/IJMS23052850
 144. Shirokova L, Noskov S, Gorokhova V, Reinecke J, Shirokova K. Intra-Articular Injections of a Whole Blood Clot Secretome, Autologous Conditioned Serum,

- Have Superior Clinical and Biochemical Efficacy Over Platelet-Rich Plasma and Induce Rejuvenation-Associated Changes of Joint Metabolism: A Prospective, Controlled Open-Label Clinical Study in Chronic Knee Osteoarthritis. *Rejuvenation Res.* 2020;23(5):401-410. doi:10.1089/REJ.2019.2263
145. Zahir H, Dehghani B, Yuan X, et al. In vitro responses to platelet-rich-plasma are associated with variable clinical outcomes in patients with knee osteoarthritis. *Scientific Reports 2021 11:1.* 2021;11(1):1-13. doi:10.1038/s41598-021-90174-x

SECCIÓN II

SECCIÓN II

SECCIÓN II



7. CONCLUSIONES

1. Se ha desarrollado una técnica para la infiltración intraósea de PRP en la articulación de la cadera, permitiendo el acceso de este producto biológico a todos los tejidos que conforman la articulación como órgano sinovial, y de forma particular al hueso subcondral, elemento clave en el desarrollo de esta enfermedad.
2. Se ha demostrado la seguridad de esta técnica, sin hallarse ningún efecto adverso secundario a la infiltración, más allá del dolor, moderado y limitado en el tiempo, debido al procedimiento de infiltración.
3. La combinación de infiltraciones intraarticulares e intraóseas con PRP en el tratamiento de la OA de cadera produce una mayor respuesta clínica frente a las infiltraciones IA aisladas en pacientes con OA severa de cadera.
4. La vía intraósea prolonga el mantenimiento en el tiempo de la respuesta clínica en comparación con las infiltraciones IA aisladas.
5. Este trabajo ofrece la primera evidencia en humanos de respuesta de las MSCs de hueso subcondral a infiltraciones de PRP IO.
6. Los resultados de este trabajo son indicativos de una mayor tasa de proliferación de las MSCs después de las infiltraciones intraóseas de PRP.
7. Los resultados apuntan a una resistencia a la acumulación de MSCs senescentes tras la infiltración de PRP IO.
8. Así mismo, los resultados apuntan a que el PRP IO induce en las MSCs la expresión de genes asociados con la formación ósea y la remodelación del cartílago.

9. Los efectos observados del PRP IO sobre las MSCs de hueso subcondral son mayores en pacientes clínicamente respondedores y en pacientes de edad avanzada.

