

Ingeniería de tejidos y osteoartritis

Clemente Ibarra, David Garcíadiego, Valentín Martínez y Cristina Velasquillo

Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia Celular y Medicina Regenerativa. Instituto Nacional de Rehabilitación. México DF. México.

Las lesiones de cartílago articular predisponen al desarrollo precoz de osteoartritis. La mayoría de las técnicas quirúrgicas actuales para el tratamiento de lesiones condrales dan lugar a la formación de fibrocartílago con propiedades bioquímicas y biomecánicas inferiores a las del cartílago articular. La ingeniería de tejidos puede ofrecer una alternativa moderna para el tratamiento de estas lesiones y de esta forma prevenir el desarrollo de osteoartritis en pacientes jóvenes activos. Existen diferentes alternativas en cuanto al tipo de células para implantar como tratamiento, ya sean el actual uso de condrocitos autólogos o células troncales mesenquimales. La otra variable es el tipo de andamio sobre el cual cultivar o sembrar la células para su implante: materiales sintéticos biocompatibles y bioabsorbibles, los derivados de fibrina o de colágeno de diferentes fuentes (bovina, porcina, de cola de rata, etc.), en forma de geles, esponjas, mallas, etc., y todas ellas con o sin la adición de factores de crecimiento. En la actualidad, el uso de condrocitos autólogos es una realidad, ya sea inyectados en suspensión bajo un parche de periostio o sembrados en colágeno. Casi todos los investigadores y las empresas de biotecnología están buscando técnicas para las que no se requieran dos intervenciones quirúrgicas, por lo cual muy probablemente habrá que pensar en células troncales y con sistemas de implantación artroscópicos.

Palabras clave: Cartílago. Ingeniería de tejidos. Osteoartritis. Regeneración. Reparación condral.

Tissue Engineering and Osteoarthritis

Articular cartilage lesions predispose to the development of early osteoarthritis. Most current surgical techniques give rise to the formation of fibrocartilage with biochemical and biomechanical properties inferior to those of articular cartilage. Tissue engineering could offer

a modern alternative to the treatment of these lesions and in this way, prevent the development of early osteoarthritis in young active patients. Different tissue engineering approaches rely on the current use of autologous chondrocytes, or the potential use of mesenchymal stem cells. Other variables rely on the type of scaffold to use such as synthetic biodegradable polymers, fibrin or collagen-derived scaffolds of different sources, bovine, porcine, rat tail, etc, in the form of gels, sponges, mesh, etc, and all of these with or without growth factors. The use of autologous chondrocytes is a reality at the present time, whether injected under a periosteum patch or seeded on collagen. However, most investigators and biotech companies are in search of one-step surgical procedures, for which reason stem cells have to be kept in mind, as well as systems that will allow arthroscopic implantation.

Key words: Cartilage. Tissue engineering. Osteoarthritis. Regeneration. Cartilage repair.

Introducción

Las lesiones del cartílago articular continúan siendo un reto para la medicina moderna, ya que en el adulto el cartílago tiene muy escasa capacidad de reparación espontánea^{1,2}. Además, las lesiones cartilaginosas en las articulaciones son altamente incapacitantes y predisponen la aparición temprana de osteoartritis (OA).

Existen diversos procedimientos quirúrgicos para el tratamiento de las lesiones focales de cartílago articular, entre los que se encuentran la artroplastia por abrasión³, la microfractura, la mosaicoplastia, los aloinjertos osteocondrales⁵ y recientemente el trasplante de condrocitos autólogos⁶⁻⁹. Sin embargo, los resultados clínicos no han sido del todo satisfactorios, principalmente a largo plazo, y no previenen la aparición de la enfermedad articular degenerativa u OA.

El común denominador de las técnicas de tratamiento utilizadas actualmente es la formación del fibrocartílago que recubre el defecto, tejido que es histológicamente diferente del cartílago articular, además de que se ha descrito la inconsistencia de la reparación del área lesionada, así como diferencias bioquímicas y propiedades

Correspondencia: Dra. C. Velasquillo.
Avda. México-Xochimilco # 289. Colonia Arenal de Guadalupe. México DF 14389. México.
Correo electrónico: mvelasquillo@inr.gob.mx

biomecánicas inferiores a las del cartílago articular¹⁰. Más aún, es frecuente que el nuevo tejido no se integre a la zona adyacente al cartílago lesionado debido a las propiedades antiadhesivas de la matriz extracelular del cartílago. Por esta y otras razones, se continúa en la búsqueda de alternativas para mejorar los resultados de las diferentes técnicas de reparación.

La ingeniería de tejidos (IT) es un campo multidisciplinario de investigación que combina los conocimientos de las ciencias de materiales con la biología celular y molecular¹¹⁻¹⁴ y puede ofrecer una alternativa para el tratamiento de las lesiones condrales^{2,15,16} y con esto prevenir la aparición de OA temprana secundaria a ellas.

El principio de la IT se basa en el cultivo y la expansión de células sembradas en estructuras o andamios tridimensionales biocompatibles y biodegradables que, con o sin la ayuda de factores de crecimiento, dan lugar a la formación de tejido nuevo para reparar o regenerar la estructura o función de tejidos lesionados o ausentes^{17,18}.

Idealmente, el cartílago articular neoforado por IT debe poseer estructura, composición bioquímica, propiedades mecánicas y capacidad de automantenimiento semejantes a las del cartílago nativo sano. Además, las características físicas de dicho neotejido deben permitir una fácil implantación quirúrgica sobre una lesión dentro de una articulación, con la finalidad de inducir un proceso de reparación natural y su integración total al cartílago nativo vecino. Para ello, se ha estudiado tanto las células adultas como las progenitoras para su aplicación en IT.

Condrocitos

Las células diferenciadas tienen la ventaja de ser células cuya función ya está predeterminada. Sin embargo, los condrocitos diferenciados sólo pueden ser obtenidos del cartílago articular y de estructuras tales como el septo nasal y el cartílago costal.

Los condrocitos articulares maduros tienen una capacidad de proliferación limitada y el número de divisiones in vitro disminuye conforme se incrementa la edad del donante¹⁹. Además, al crecer en una sola capa, los condrocitos pierden su fenotipo condral y en ocasiones también su capacidad de rediferenciación, por lo que se ha propuesto el uso de factores de crecimiento y estructuras tridimensionales para mantener o activar la rediferenciación²⁰, así como el uso de células progenitoras para la formación de cartílago.

Células progenitoras

Las células progenitoras, troncales o células madre mesenquimales tienen por definición una alta tasa de proliferación y capacidad de diferenciación hacia tejidos del

aparato locomotor, por lo que su uso en IT parece ser prometedor. Se han aislado células con características condrogénicas a partir de tejidos como los del periostio²¹, la médula ósea²², la membrana sinovial²³, el músculo²⁴, el hueso²⁵, la piel y el tejido adiposo²⁶, entre otros.

Una de las ventajas de utilizar células mesenquimales (CM) es que, a pesar de que en adultos las CM obtenidas de médula ósea son menos del 0,001% de las células nucleadas, éstas se pueden multiplicar a grandes números in vitro. Otra ventaja es que el método de obtención de las CM es menos agresivo que una biopsia de cartílago articular como fuente celular del tejido de reparación. La diferenciación hacia cartílago puede ser obtenida in vitro modificando las condiciones de los cultivos mediante el uso de factores de crecimiento durante su multiplicación, o in vivo, en respuesta a un nuevo microambiente^{27,28}.

Matrices de sostén o andamios

Las estrategias en ingeniería de tejidos generalmente emplean estructuras tridimensionales o matrices sobre las cuales las células se reorganizan y forman un tejido nuevo.

La matriz ideal para formar cartílago mediante ingeniería de tejidos debe: *a)* ser reproducible; *b)* ser tridimensional; *c)* tener una estructura porosa que permita la distribución uniforme; *d)* permitir la adhesión celular; *e)* degradarse homogéneamente, y *f)* ser biocompatible²⁹.

Se ha estudiado diferentes tipos de materiales, tanto biológicos como sintéticos. Con las técnicas de obtención y procesamiento actuales, ambos tipos son similares en cuanto a su disponibilidad y compatibilidad con los condrocitos. Sin embargo, con los polímeros sintéticos probablemente pueda controlarse con mayor facilidad el tiempo de degradación, además de que con ellos hay mínimo riesgo de respuesta inmunitaria en el ambiente articular¹³. Sin embargo, se ha descrito respuestas inflamatorias inespecíficas con algunos materiales.

Entre los polímeros biológicos se encuentran geles y esponjas de colágeno, pegamentos de fibrina³⁰, hialuronatos³¹, alginato³² y agarosa. Entre los materiales sintéticos más utilizados se encuentran el ácido poliglicólico (PGA)³³, el ácido poliláctico (PLA) y sus copolímeros (PGLA), la polidioxanona (PDS) y otros hidrogeles termopolimerizables y fotopolimerizables³⁴. Todos ellos han demostrado mantener el fenotipo de los condrocitos en cultivos tridimensionales, con lo que ofrecen una alternativa en la reparación de las lesiones condrales³⁵.

Factores de crecimiento

Desde hace muchos años se ha estudiado un amplio número de factores de crecimiento que coordinan la dife-

renciación celular tanto de condrocitos adultos como de CM. Los mejores candidatos que podrían proveer las señalizaciones para inducir la condrogénesis son los miembros de la familia del factor de crecimiento transformador beta (TGF β), entre ellos la BMP2, la BMP4 y el TGF β 1.

Los estudios que han empleado TGF β 1 y BMP2 en condrocitos de periostio de rata muestran que el cultivo con BMP2 resulta en la hipertrofia de los condrocitos, mientras que la combinación de factores promueve la formación de matriz cartilaginosa extracelular³⁶. En condrocitos articulares humanos, la combinación de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y TGF β 1 incrementa la proliferación y promueve la rediferenciación condral²⁰.

La exposición de CM de equino a TGF β 1 induce la expresión de colágeno tipo II en cultivos en una sola capa³⁷. Los cultivos de CM de alta densidad en presencia del TGF β se diferencian rápidamente a condrocitos maduros^{38,39}.

Perspectivas actuales y futuro

En la actualidad el uso de condrocitos autólogos para el tratamiento de lesiones de cartílago articular es una realidad, ya sea inyectando las células en suspensión bajo un parche de periostio o mediante el implante de matrices de colágeno sembradas con las células. Sin embargo, casi todos los investigadores y las empresas de biotecnología están buscando técnicas para las que no se requieran dos intervenciones quirúrgicas, con lo cual se podría simplificar la logística y reducir el costo para llevar a cabo este tipo de tratamientos de vanguardia, y muy probablemente habrá que tener en mente el uso potencial de células troncales cultivadas e implantadas en matrices con mejores propiedades bioquímicas y mecánicas que permitan su implantación con técnicas artroscópicas.

Agradecimientos

Proyecto financiado por CONACYT Salud-2003-C01-98.

Bibliografía

1. Caplan AI, Elyaderani M, Mochizuki Y, Wakitani S, Goldberg VM. Principles of cartilage repair and regeneration. *Clin Orthop Relat Res.* 1997;(342):254-69.
2. Athanasiou KA, Shah AR, Hernandez RJ, LeBaron RG. Basic science of articular cartilage repair. *Clin Sports Med.* 2001;20:223-47.
3. Johnson LL. Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathologic perspective: present status. *Arthroscopy.* 1986;2:54-69.
4. Hangody L, Fules P. Autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of full-thickness defects of weight-bearing joints: ten years of experimental and clinical experience. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85 A Suppl 2:25-32.
5. Alford JW, Cole BJ. Cartilage restoration, part 2: techniques, outcomes, and future directions. *Am J Sports Med.* 2005;33:443-60.
6. Bentley G, Biant LC, Carrington RW, Akmal M, Goldberg A, Williams AM, et al. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;85:223-30.
7. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med.* 1994;331:889-95.
8. Brittberg M, Tallheden T, Sjogren-Jansson B, Lindahl A, Peterson L. Autologous chondrocytes used for articular cartilage repair: an update. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;391 Suppl:S337-48.
9. Brittberg M, Winalski CS. Evaluation of cartilage injuries and repair. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85 A Suppl 2:58-69.
10. Nehrer S, Spector M, Minas T. Histologic analysis of tissue after failed cartilage repair procedures. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;(365):149-62.
11. Schachar NS, Novak K, Muldrew K, Zernicke RF, McGann LE. Articular cartilage joint surface reconstruction techniques. *J Orthop Sci.* 1999;4:457-61.
12. Schultz O, Sittinger M, Haeupl T, Burmester GR. Emerging strategies of bone and joint repair. *Arthritis Res.* 2000;2:433-6.
13. Temenoff JS, Mikos AG. Review: tissue engineering for regeneration of articular cartilage. *Biomaterials.* 2000;21:431-40.
14. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science.* 1993;260:920-6.
15. Hunziker EB. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002;10:432-63.
16. Grigolo B, Roseti L, Fiorini M, De Franceschi L, Facchini A. [Tissue engineering applications: cartilage lesions repair by the use of autologous chondrocytes]. *Reumatismo.* 2002;54:364-71.
17. Vacanti CA. The history of tissue engineering. *J Cell Mol Med.* 2006;10:569-76.
18. Vacanti CA. History of tissue engineering and a glimpse into its future. *Tissue Eng.* 2006;12:1137-42.
19. Dozin B, Malpeli M, Camardella L, Cancedda R, Pietrangelo A. Response of young, aged and osteoarthritic human articular chondrocytes to inflammatory cytokines: molecular and cellular aspects. *Matrix Biol.* 2002;21:449-59.
20. Jakob M, Demarteau O, Schafer D, Hintermann B, Dick W, Heberer M, et al. Specific growth factors during the expansion and redifferentiation of adult human articular chondrocytes enhance chondrogenesis and cartilaginous tissue formation in vitro. *J Cell Biochem.* 2001;81:368-77.
21. De Bari C, Dell'Accio F, Vanlauwe J, Eyckmans J, Khan IM, Archer CW, et al. Mesenchymal multipotency of adult human periosteal cells demonstrated by single-cell lineage analysis. *Arthritis Rheum.* 2006;54:1209-21.
22. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999;284:143-7.
23. De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum.* 2001;44:1928-42.
24. Bosch P, Musgrave DS, Lee JY, Cummins J, Shuler T, Ghivizzani TC, et al. Osteoprogenitor cells within skeletal muscle. *J Orthop Res.* 2000;18:933-44.
25. Noth U, Osyczka AM, Tuli R, Hickok NJ, Danielson KG, Tuan RS. Multilineage mesenchymal differentiation potential of human trabecular bone-derived cells. *J Orthop Res.* 2002;20:1060-9.
26. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001;7:211-28.
27. Alhadlaq A, Mao JJ. Tissue-engineered neogenesis of human-shaped mandibular condyle from rat mesenchymal stem cells. *J Dent Res.* 2003;82:951-6.
28. Alhadlaq A, Mao JJ. Mesenchymal stem cells: isolation and therapeutics. *Stem Cells Dev.* 2004;13:436-48.
29. Vunjak-Novakovic G. The fundamentals of tissue engineering: scaffolds and bioreactors. *Novartis Found Symp.* 2003;249:34-46 [comentario en: 46-51, 170-4, 239-41].
30. Fortier LA, Nixon AJ, Lust G. Phenotypic expression of equine articular chondrocytes grown in three-dimensional cultures supplemented with supraphysiologic concentrations of insulin-like growth factor-1. *Am J Vet Res.* 2002;63:301-5.
31. Marcacci M, Berruto M, Brocchetta D, Delcogliano A, Ghinelli D, Gobbi A, et al. Articular cartilage engineering with Hyalograft C: 3-year clinical results. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;(435):96-105.
32. Lee DA, Reisler T, Bader DL. Expansion of chondrocytes for tissue engineering in alginate beads enhances chondrocytic phenotype compared to conventional monolayer techniques. *Acta Orthop Scand.* 2003;74:6-15.
33. Ibarra C, Koski JA, Warren RF. Tissue engineering meniscus: cells and matrix. *Orthop Clin North Am.* 2000;31:411-8.

34. Elisseeff J, Puleo C, Yang F, Sharma B. Advances in skeletal tissue engineering with hydrogels. *Orthop Craniofac Res.* 2005;8:150-61.
35. Van der Kraan PM, Buma P, Van Kuppevelt T, Van den Berg WB. Interaction of chondrocytes, extracellular matrix and growth factors: relevance for articular cartilage tissue engineering. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002;10:631-7.
36. Hanada K, Solchaga LA, Caplan AI, Hering TM, Goldberg VM, Yoo JU, et al. BMP-2 induction and TGF-beta 1 modulation of rat periosteal cell chondrogenesis. *J Cell Biochem.* 2001;81:284-94.
37. Worster AA, Nixon AJ, Brower-Toland BD, Williams J. Effect of transforming growth factor beta1 on chondrogenic differentiation of cultured equine mesenchymal stem cells. *Am J Vet Res.* 2000;61:1003-10.
38. Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36:568-84.
39. Barry F, Boynton RE, Liu B, Murphy JM. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow: differentiation-dependent gene expression of matrix components. *Exp Cell Res.* 2001;268:189-200.