

ORIGINAL

Eficacia del trasplante de células madre mesenquimales de lipoaspirado en el tratamiento de lesiones crónicas del manguito rotador. Modelo experimental en ratas



V. Ponz-Lueza^{a,*}, Y. Lopiz^b, C. Rodríguez-Bobada^c, P. Tornero-Esteban^d,
C. Arvinus^a, C. García-Fernández^a, D. Seara-Lifante^{e,f}, F.J. Rojo-Pérez^f y F. Marco^b

^a Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

^b Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Clínico San Carlos, Universidad Complutense, Madrid, España

^c Unidad de Medicina y Cirugía Experimental, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

^d Instituto de Investigación Sanitaria, Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), Madrid, España

^e Departamento de Ciencia de Materiales, Universidad Politécnica de Madrid, Centro de Tecnología Biomédica, Madrid, España

^f Universidad Politécnica, Silk Biomed S.L., Madrid, España

Recibido el 12 de mayo de 2023; aceptado el 18 de mayo de 2023

Disponible en Internet el 23 de mayo de 2023

PALABRAS CLAVE

Rotura crónica
manguito rotador;
Células madre
mesenquimales;
Células madre
adiposas;
Terapia celular;
HypoThermosol;
Rata

Resumen

Antecedentes y objetivo: Las roturas del manguito rotador afectan aproximadamente al 30% de la población mayor de 60 años. El tratamiento quirúrgico por vía artroscópica de estas lesiones es el tratamiento de elección, sin embargo, a pesar de las mejoras técnicas de reparación el índice de rerroturas oscila entre el 11 y el 94%. Por ello, los investigadores buscan mejorar el proceso de curación biológica mediante el uso de diferentes alternativas como las células madre mesenquimales (MSC). Nuestro objetivo es evaluar la eficacia de un medicamento de terapia celular elaborado a partir de células madre alogénicas derivadas del tejido adiposo en un modelo de lesión crónica del manguito rotador en ratas.

Material y método: Se creó la lesión del supraespinoso en 48 ratas para su posterior sutura a las 4 semanas. A 24 animales se les añadió las MSC en suspensión tras la sutura, y a 24 animales HypoThermosol-FRS® (HTS) como grupo control. En ambos grupos se analizó la histología (escala Åström y Rausing) y la carga máxima, desplazamiento y constante elástica del tendón supraespinoso a los 4 meses de la reparación.

Resultados: No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la puntuación histológica comparando los tendones tratados con MSC con respecto a los tendones tratados con HTS ($p=0,811$) ni tampoco en los resultados de carga máxima ($p=0,770$), desplazamiento ($p=0,852$) ni constante elástica ($p=0,669$) del tendón en ambos grupos.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: virginiaponz@gmail.com (V. Ponz-Lueza).

Conclusiones: La adición en suspensión de células derivadas de tejido adiposo a la reparación de una lesión crónica de manguito no mejora las características histológicas ni biomecánicas del tendón suturado.

© 2023 SECOT. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Chronic rotator cuff tear;
Mesenchymal stem cells;
Adipose stem cells;
Cellular therapy;
HypoThermosol;
Rat

Efficacy of transplantation of lipoaspired mesenchymal stem cells in the treatment of chronic rotator cuff tears. Experimental model in rats

Abstract

Background and aim: Rotator cuff tears emerge in approximately 30% of the population over 60 years of age. Arthroscopic surgical treatment of these lesions is the treatment of choice, however, despite the improved repair techniques, the rate of re-tears ranges between 11 and 94%. Therefore, researchers seek to improve the biological healing process through the use of different alternatives such as mesenchymal stem cells (MSCs). Our objective is to evaluate the efficacy of a Cellular Therapy Drug made from allogeneic stem cells derived from adipose tissue in a rat model of chronic rotator cuff injury.

Material and methods: The supraspinatus lesion was created in 48 rats for subsequent suturing at 4 weeks. MSCs in suspension were added to 24 animals after suturing, and HypoThermosol-FRS® (HTS) to 24 animals as a control group. Histology (Åström and Rausing scale) and the maximum load, displacement and elastic constant of the supraspinatus tendon were analyzed in both groups 4 months after the repair.

Results: No statistically significant differences were found in the histological score comparing the tendons treated with MSCs with respect to the tendons treated with HTS ($P=.811$) nor in the results of maximum load ($P=.770$), displacement ($P=.852$) or elastic constant ($P=.669$) of the tendon in both groups.

Conclusions: The addition of adipose-derived cells in suspension to the repair of a chronic cuff injury does not improve the histology or biomechanics of the sutured tendon.

© 2023 SECOT. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Las roturas del manguito rotador afectan aproximadamente al 30% de la población mayor de 60 años, siendo sintomáticas en la mayoría de los casos¹. El tendón del supraespinoso es el más lesionado, dada su vulnerable localización bajo el arco coracoacromial y a su pobre vascularización²⁻⁵.

Además, la entesis o «footprint» del tendón supraespinoso, es una estructura compleja formada por 4 zonas de transición en su inserción humeral: tendón, fibrocartilago no-mineralizado, fibrocartilago mineralizado y hueso, que dificulta su reproducibilidad tras su reparación^{6,7}.

El tratamiento quirúrgico por vía artroscópica de estas lesiones es el tratamiento de elección⁸, sin embargo, a pesar de las mejoras técnicas de reparación, todos los factores anteriormente expuestos contribuyen a que el índice de rerroturas actual oscile entre el 11 y el 94%^{9,10}.

Por todo ello, los investigadores buscan mejorar el proceso de curación biológica mediante el uso de diferentes alternativas como puede ser el uso de plasma rico en plaquetas (PRP), factores de crecimiento, uso de transportadores, o las terapias celulares con células madre mesenquimales (MSC).

Las MSC, a parte de su capacidad de diferenciación hacia otros linajes celulares, parece que presentan un efecto inmunomodulador que podría ayudar a estimular la

reparación endógena del propio tejido mediante su efecto paracrino, de esta forma, modularían la reacción inflamatoria y proporcionarían un microambiente favorable para la formación del tejido de regeneración⁸. Su empleo en suspensión evitaría adicionalmente los problemas derivados del empleo de determinados transportadores.

Nuestro objetivo es evaluar la eficacia de un medicamento de terapia celular elaborado a partir de células madre alogénicas derivadas del tejido adiposo en un modelo de lesión crónica del manguito rotador en ratas, mediante su empleo en suspensión.

Material y métodos

Este proyecto fue evaluado favorablemente por el Comité de Ética de Experimentación Animal en su reunión con acta 6.1/2018 (Código Interno: 18/002-II), a su vez se remitió una comunicación del procedimiento a la Sección de Protección Animal de la Consejería de Medio Ambiente de la Comunidad. Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron íntegramente en el Animalario de la Unidad de Cirugía Experimental del Hospital Clínico San Carlos, siguiendo las recomendaciones descritas por la Directiva UE 2010/63/UE para experimentos con animales y su posterior reglamento UE 2019/1010.

El cálculo del tamaño muestral se realizó siguiendo el principio de las 3R en la investigación animal: Reemplazar, Reducir y Refinar. Para ello nos basamos en los datos de un estudio previo con el mismo modelo de lesión y reparación donde la media de carga máxima antes de la rotura fue 20,8N (DE: 4,4) a las 4 semanas^{11,12}. Hemos considerado clínicamente significativo un incremento de la fuerza del 25% entre los 2 grupos, una potencia de 0,8 y un nivel de significación del 0,05. Con estas especificaciones, el tamaño muestral calculado es de 24 hombros intervenidos para estudio biomecánico (12 añadiendo MSC + 12 añadiendo HTS) y otros 24 hombros intervenidos para estudio histológico (12 añadiendo MSC + 12 añadiendo HTS), lo que hacen un total de 48 hombros intervenidos o 48 ratas. Se ha utilizado para ello el paquete estadístico «TrialSize» para igualdad de medias del *software* estadístico R. Se calculan un 10% de pérdidas, por lo que la n total estimada fue de 48 + 5, es decir 53 animales.

Se han empleado un total de 49 ratas (48 + una pérdida) tipo Sprague-Dawley de 8 meses de edad con pesos comprendidos entre 500 y 950 g, con una media de 678 g. Todos ellos machos y procedentes del mismo laboratorio (Laboratorio Janvier). Todos los animales fueron sometidos a una sección unilateral del tendón supraespinoso procediéndose a la reparación posterior del mismo a las 4 semanas de la lesión, momento en el que se considera que la lesión es crónica^{13–17}.

Al grupo I (n=24) se le administró el producto de terapia celular (células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo [ADSC]) en suspensión sobre la reparación tendinosa, buscando el efecto paracrino local directo de las MSC. Al grupo II (n=24) se le administro HypoThermosol-FRS® (HTS) como grupo control. La eutanasia se llevó a cabo a los 4 meses tras la reparación tendinosa para enviar la mitad de las muestras de cada grupo a estudio histológico (n=24, 12 del grupo I + 12 del grupo II) y biomecánico (n=24, 12 del grupo I + 12 del grupo II).

El principio activo del medicamento de terapia celular consiste en células madre mesenquimales para uso alogénico obtenidas a partir de lipoaspirados de donante (ADSC), obtenidas y tratadas en la Sala Blanca del Hospital Clínico San Carlos, según la regulación vigente. El excipiente que nos asegura una correcta viabilidad de las células a una concentración de 20×10^6 células es el HypoThermosol-FRS®.

Técnica quirúrgica

Bajo sedación con isoflurano y anestesia local con mepivacaína al 2% en piel y tejido celular subcutáneo, se realiza una incisión en piel de unos 2 cm sobre el hombro izquierdo con bisturí sobre la parte superolateral de la articulación escapulohumeral. Se realiza una incisión en T invertida en el músculo deltoides que nos permite visualizar el tendón supraespinoso (fig. 1), que tras su delimitación es marcado con Prolene® 6.0, para realizar su sección lo más perpendicular posible a su eje mayor en la zona crítica del tendón, situada a unos 4 mm de su inserción. Finalmente se suturará músculo, subcutáneo y piel con Vicryl Rapide® 4.0.

Una vez finalizada la intervención, se retira el gas y se deja al animal solo con oxígeno, hasta que él mismo va eliminando el gas inhalado.

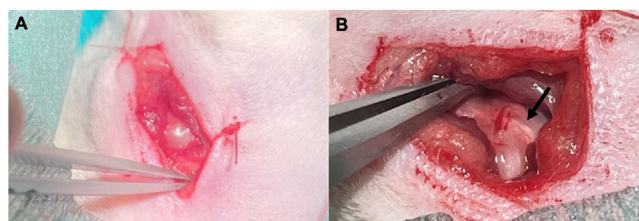


Figura 1 Imagen de la intervención. A) Inserción del tendón supraespinoso. B) Porción larga del bíceps (PLB) (flecha negra).

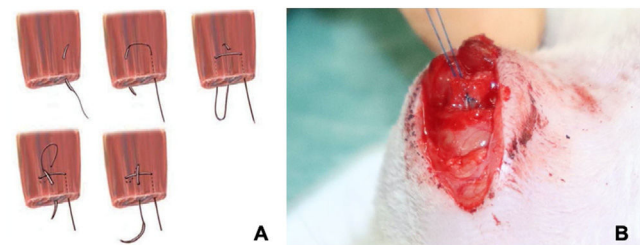


Figura 2 A) Ilustración de la sutura tipo Mason-Allen modificada¹⁸. B) Imagen de la cirugía, sutura tipo Mason-Allen modificada sobre el tendón supraespinoso de la rata.

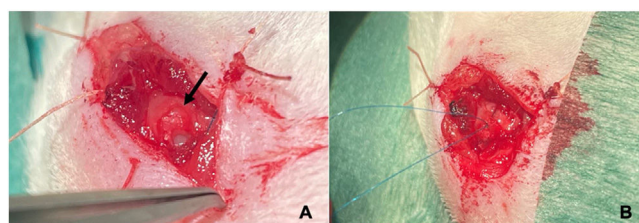


Figura 3 A) Tendón supraespinoso seccionado. Muñón restante sobre el troquíter (flecha negra), bajo el, se descubre el cartílago de la cabeza humeral. B) Tendón supraespinoso reparado y suturado con el Prolene® 6.0. Observamos que ya no podemos ver la cabeza humeral de la rata.

En una segunda intervención realizada a las 4 semanas de la primera bajo anestesia general se realiza tras la localización del cabo tendinoso, la reparación del tendón mediante una sutura tipo Mason-Allen modificada¹⁸ con Prolene® 6.0. (fig. 2). Para su fijación en el húmero, realizaremos un túnel transóseo a través del cual pasaremos uno de los cabos de la sutura para así aproximar el cabo proximal del tendón supraespinoso a la región limpia del troquíter (fig. 3). Una vez suturado el tendón, realizamos el cierre del deltoides, de forma que la articulación glenohumeral quede lo más estanca posible.

El siguiente paso será inyectar la solución de MSC o HTS sobre el tendón reparado en suspensión, según el grupo de estudio al que pertenezca el animal. Finalmente se suturará el tejido celular subcutáneo y piel con Vicryl Rapide® 4.0.

Durante el postoperatorio de ambas cirugías se inyectarán enrofloxacino y meloxicam subcutáneo durante 3 días, para el mayor bienestar del animal.

A los 4 meses tras la reparación tendinosa se procede a la eutanasia. Según el protocolo de bienestar animal (RD 53/2013) para evitar el sufrimiento animal, se le suministra mediante una máscara de anestesia isoflurano al 4% hasta que el animal queda sedado. Posteriormente, se deposita

al animal en una cabina cerrada herméticamente con una atmósfera de CO₂.

Estudio histológico

Todas las muestras (n=24; 12 grupo I+12 grupo II) fueron evaluadas por 2 investigadores, a doble ciego. Con hematoxilina-eosina se trató de determinar la presencia de lesiones histológicas en los tejidos estudiados. Utilizamos la escala de valoración semicuantitativa que se muestra en la [tabla 1](#), basada en la escala de A°ström y Rausing¹⁹. Posteriormente se pusieron en común las valoraciones de ambos investigadores.

Estudio biomecánico

El estudio biomecánico se llevó a cabo por el Departamento de Ciencia de Materiales de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos, por la Universidad Politécnica de Madrid.

Utilizamos la máquina de tracción Instron® modelo 4411 con una célula de carga de 1000N con *software* de control PCD 2K. Se analizaron los valores de carga máxima (N), el grado de desplazamiento del tendón (mm) y la pendiente o constante elástica de cada muestra (N/mm).

Analizamos tanto el hombro sano como el intervenido en un total de 24 animales, 12 pertenecientes al grupo I y 12 al grupo II. Por lo tanto, se analizaron un total de 48 hombros. Esto se realizó así dada la variabilidad en tamaño y peso que puede haber entre un animal y otro, de tal forma que eliminamos ese sesgo comparando un hombro intervenido con su contralateral.

Estudio estadístico

Las variables continuas se presentan como medias y desviaciones estándar, y se han analizado mediante la prueba de la t de Student. Si los datos no eran normales (confirmado con la prueba de Shapiro-Wilk), se presentan como medianas, utilizándose el test Mann-Whitney y la prueba de Chi-cuadrado para realizar el análisis. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. El análisis estadístico se realizó con el *software* IBM® SPSS.

Resultados

Tan solo obtuvimos una pérdida durante el seguimiento. El animal pertenecía al grupo I. Falleció durante la inducción anestésica en la segunda intervención sin llegar, por tanto, a ser intervenido.

A nivel histológico, un tendón sano obtendrá una puntuación de 0, mientras que el tendón más patológico puntuará 14. El *score total* de ambos grupos fue de 39 para el grupo MSC y de 34 para HTS ($p=0,811$), sin diferencias estadísticamente significativas. La mediana del grupo HTS es de 1 y 2, empatados a 4 muestras, mientras que la del grupo MSC es de 1 ([tabla 2](#)). Analizando cada variable por separado obtenemos los datos que se muestran en la [tabla 3](#).

En ninguna de las variables obtenemos diferencias estadísticamente significativas. La variable metaplasia

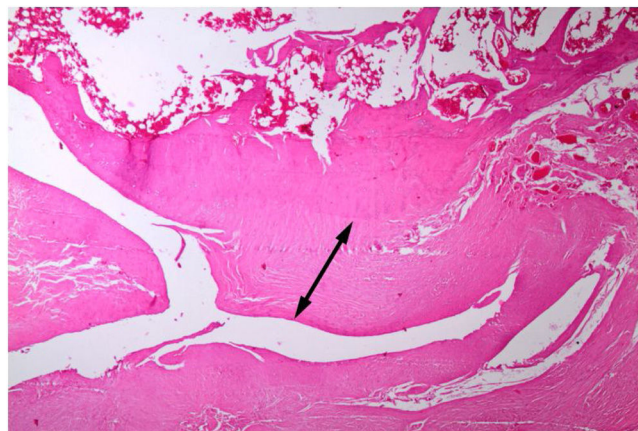


Figura 4 Muestra histológica del grupo MSC. En esta imagen se observa un aumento ligero de la cantidad de condrocitos dentro de la matriz tendinosa (flecha negra).

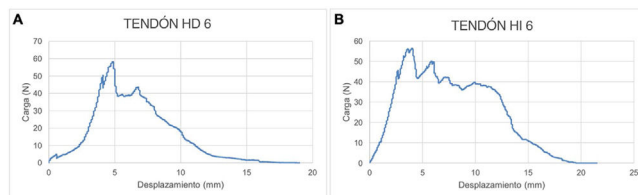


Figura 5 A) Curva fuerza-desplazamiento del tendón 6 hombro derecho (no intervenido). B) Curva fuerza-desplazamiento del tendón 6 hombro izquierdo (Intervenido).

condroide destaca como la que más puntúa en ambos grupos como variable patológica ([fig. 4](#)).

A nivel biomecánico, los resultados obtenidos se resumen en la [tabla 4](#).

Como vemos, todos los valores son muy similares en ambas muestras. La carga máxima media de grupo MSC es de 50,967N, mientras que el del grupo HTS es de 51,992N, tan solo 1 newton de diferencia. Lo mismo ocurre con el valor desplazamiento del tendón, donde la diferencia de la media entre ambos grupos es menor a 1 mm (5,533 mm en el grupo MSC frente a 5,333 mm en el grupo HTS). La pendiente presenta mayor diferencia entre grupos (14,85 N/mm MSC frente a 17,28 N/mm HTS), pero aun así no lo suficiente para alcanzar la significación estadística.

En la [figura 5](#) se representa la curva fuerza-desplazamiento del tendón sano e intervenido de un animal del grupo MSC. Como vemos en este ejemplo, el tendón intervenido se desplaza menos milímetros antes de llegar al valor de carga máxima de la curva (alcanza el punto de rotura o carga máxima – 56,5N antes de llegar a los 5 mm de desplazamiento del tendón), con respecto al tendón sano (alcanza el punto de rotura o carga máxima – 58,2N cuando el tendón se desplaza 5 mm). El valor de carga máxima es mayor en el tendón sano (58,2N) con respecto al intervenido en este caso (56,5N), lo que significa que el tendón sano necesita una fuerza mayor para causar su rotura.

Tabla 1 Escala y puntuación utilizada en las muestras histológicas

	—		—		+		++	
Matriz de colágeno	Muy desorganizada	2	Desorganizada	1	Normal, fibras paralelas	0		
Zona de transición	Inexistente, no se tocan hueso y tendón	3	Desorganizada	2	Organizada, pero no del todo normal	1	Normal	0
Inflamación bursa			Ausencia	0	Presencia	1	Moderada-severa	2
Infiltrado granulomatoso			Ausencia	0	Presencia	1		
Vascularización			Irregular, perpendicular	1	Normal	0		
Celularidad de tenocitos			Presencia reducida	2	Normal	0	Elevada	1
Degeneración grasa			Ausencia	0	Presencia	1		
Metaplasia condroide			Ausencia de condrocitos en matriz tendinosa	0	Presencia ligeramente aumentada de condrocitos en matriz tendinosa	1	Elevada presencia de condrocitos en matriz tendinosa	2

Tabla 2 Puntuación histológica por cada numero de muestra y grupo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Score Total
HTS	4	2	1	9	1	2	4	5	2	1	2	1	34
MSC	4	1	8	1	5	5	1	2	1	3	7	1	39

HTS: HypoThermosol; MSC: células madre mesenquimales.

Discusión

La optimización de una terapia utilizando MSC va a ser complicada hasta que los mecanismos primarios de acción ejercidos por las células tras su administración sean dilucidados por completo. Durante mucho tiempo se pensó que la actividad terapéutica ejercida tras la administración de MSC dependía exclusivamente de la capacidad de las células de injertarse en los tejidos y de su capacidad de diferenciación. Sin embargo, posteriormente numerosos estudios empezaron a demostrar la efectividad de la terapia celular a pesar de una escasa capacidad de injerto de las células, principalmente cuando se administraban de forma sistémica²⁰. En la actualidad se cree que el mecanismo de acción de las MSC está asociado no solo con su capacidad de injertarse y de diferenciación sino también al de su capacidad para liberar señales paracrinas, aunque la contribución de cada una de estas propiedades sigue sin estar clara²¹. Se sabe sin embargo, que factores asociados a las MSC como son el tamaño celular, la edad del donante, la inmunogenicidad relacionada con la fuente del donante (autólogo o alogénico), el pase de cultivo, así como el número de pases son factores asociados con la distribución de las células tras su

administración, son importantes para la obtención de unas células de calidad, de ahí la importancia de tener un producto de terapia celular que nos aporte esa información y, por lo tanto, esa seguridad a la hora de utilizarlas como una opción más de tratamiento.

Las MSC que más se han utilizado son aquellas derivadas de la médula ósea (BMSC) y las derivadas de tejido adiposo (ADSC). En nuestro estudio elegimos las MSC derivadas del tejido adiposo, porque su principal ventaja es la gran accesibilidad a ellas en la práctica diaria habitual, ya que se pueden conseguir a través de procedimientos como las liposucciones o lipoaspirados, obteniendo un rendimiento considerablemente superior al de otras localizaciones. Pueden controlarse además, factores como la edad del donante, enfermedades de base o la forma de cultivo y tratado posterior antes de su administración. Como principal desventaja es que la mayoría se utilizan de forma alogénica en el receptor.

Los efectos terapéuticos de las ADSC para las lesiones del manguito rotador en modelos experimentales se resumen en la [tabla 5](#). Como vemos, la rata es un animal ampliamente utilizado en la literatura para el estudio de la enfermedad del manguito rotador. Su fácil manejo, sus similitudes en a

Tabla 3 Resultados histológicos por variables independientes, comparando el grupo MSC frente al HTS

Variable	Puntos	Muestras MSC	Muestras HTS	Chi-cuadrado
Matriz de colágeno	0	8	9	0,346
	1	4	2	
	2	0	1	
Zona de transición	0	7	5	0,452
	1	2	4	
	2	2	3	
	3	1	0	
Inflamación de la bursa	0	9	9	0,452
	1	2	3	
	2	1	0	
Inflamación granulomatosa	0	11	11	1
	1	1	1	
Vascularización	0	9	12	0,217
	1	3	0	
Celularidad de tenocitos	0	11	10	1
	1	1	2	
	2	0	0	
Degeneración grasa	0	9	12	0,217
	1	3	0	
Metaplasia condroide	0	2	1	0,681
	1	6	8	
	2	4	3	

HTS: HypoThermosol; MSC: células madre mesenquimales.

Tabla 4 Media de las variables del estudio biomecánico en los hombros intervenidos y no intervenidos, comparado por grupos de estudio

Valores	MSC	HTS	t de Student
<i>Hombros intervenidos</i>			
Carga máxima (N)	50,967 (DS: 9,1095)	51,992 (DS: 9,1296)	0,770
Desplazamiento del tendón (mm)	5,533 (DS: 1,4405)	5,333 (DS: 1,1927)	0,852
Pendiente (N/mm)	14,85 (DS: 4,01)	17,28 (DS: 14,96)	0,669
<i>Hombros no intervenidos</i>			
Carga máxima (N)	55,558 (DS: 9,7207)	58,183 (DS: 10,506)	0,532
Desplazamiento del tendón (mm)	6,850 (DS: 2,9454)	6,450 (DS: 1,8158)	0,693
Pendiente (N/mm)	16,26 (DS: 4,89)	17,68 (DS: 4,73)	0,477

DS: desviación estándar; HTS: HypoThermosol; MSC: células madre mesenquimales.

la anatomía y movilidad del hombro al humano, sumado a la experiencia previa de nuestro grupo de investigación con este animal ha hecho que nos decantemos por él para la realización de este trabajo^{13,22}.

En cuanto a nuestros resultados histológicos, ninguna de las variables analizadas en nuestro estudio ha obtenido una significación estadística, por lo tanto, no se ha podido demostrar que el tratamiento con las células madre en este modelo de lesión crónica tenga una acción suficiente como para mejorar la histología del tendón. Revisando la literatura, nos encontramos con 2 problemas: uno es que la mayoría de los estudios que utilizan MSC lo hacen sobre modelos de lesión aguda y, por lo tanto, no podemos compararnos con esos estudios y con la capacidad de regeneración celular que describen, ya que no tiene los mismos mecanismos de cicatrización si se trata de una lesión aguda o de una lesión crónica²³⁻²⁷; y otro es que no hay ningún estudio

que se centre al completo y valore el efecto paracrino de las células dejándolas en suspensión en la articulación glenohumeral, sino que la mayoría de ellos utilizan transportadores o aportan factores de crecimiento a las muestras^{23,26-29}.

Shin et al. utilizan MSC derivadas de adipocitos en su modelo crónico de lesión del manguito rotador en ratas colocándolas sobre una lamina a modo de transportador. Observaron a las 2 y 4 semanas tras la reparación que a nivel histológico el grupo tratado con células tenía un área de fibrocartilago mayor, de forma estadísticamente significativa²⁹.

En cuanto a los resultados biomecánicos, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas que nos sugieran que el tratamiento con células aporta una mejoría clara de las propiedades biomecánicas del tendón.

La carga máxima, supone la fuerza máxima necesaria que hay que aplicar sobre el tendón para que se rompa, por lo

Tabla 5 - Efectos terapéuticos de las ADSC en las lesiones del manguito rotador en modelos experimentales en ratas

	Animal	Modelo de lesión	Tipo de células	Transportador	Tiempo de observación	Resultados
Mora et al. (2014)	Rata	Reparación sobre una lesión aguda del tendón supraespinoso	ADSC	Transportador de colágeno	2 y 4 semanas	Menos inflamación, pero sin mejorar las propiedades biomecánicas
Barco et al. (2015)	Rata	Reparación sobre una lesión aguda del tendón supraespinoso	ADSC	Sellador de fibrina	4 y 8 semanas	Menos presencia de neutrófilos y mayor presencia de células plasmáticas sin que mejoren el aspecto histológico ni la resistencia biomecánica del tendón
Chen et al. (2015)	Rata	Reparación sobre una lesión aguda del tendón supraespinoso	ADSC		Una semana	Disminución de la inflamación, mejora el aspecto histológico y la carga máxima a los 7 días. No hay diferencias al pasar más tiempo
Lipner et al. (2015)	Rata	Reparación sobre una lesión aguda del tendón supraespinoso	ADSC/ADSC con BMP-12	Nanofibras de PLGA con gradientes en mineral con hidrogel de fibrina	2, 4 y 8 semanas	ADSC transportado con BMP-12 disminuye las propiedades mecánicas, la resistencia y la elasticidad en la zona de reparación
Rothrauff et al. (2019)	Rata	Reparación sobre una lesión aguda del tendón supraespinoso e infraespinoso/reparación sobre lesión crónica con inyección de toxina botulínica A intramuscular	ADSC	GelMA/hidrogel de fibrina	4 semanas	Mayor densidad mineral ósea del húmero proximal en el modelo crónico con ambos grupos
Kaizawa et al. (2019)	Rata	Reparación sobre una lesión crónica del tendón supraespinoso	ADSC	Hidrogel de tendón humano	8 semanas	El aumento de tendón con hidrogel con ADSC mejora las propiedades biomecánicas y el área de fibrocartilago, pero no mejora la interfaz tendón-hueso.
Shin et al. (2020)	Rata	Reparación sobre una lesión crónica del tendón supraespinoso	ADSC	Células derivadas de oveja	2 y 4 semanas	Area de fibrocartilago más grande, valores más altos de volumen óseo/volumen total y propiedades biomecánicas

ADSC: células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo.

tanto, a mayor carga máxima, más resistente será el tendón. Analizando nuestros resultados, vemos que la carga máxima media de los tendones no intervenidos (56,871 N – DS: 9,9889) es mayor que la carga máxima media de los tendones intervenidos (51,479 N – DS: 8,9344), o lo que es lo mismo: los tendones intervenidos se rompen antes. Igualmente, al añadir MSC (50,967 N – DS: 9,1095) o HTS (51,479 N – DS: 9,1298) sobre la sutura, no somos capaces de aportar esa resistencia que necesita el tendón para aumentar la carga máxima, y así evitar el riesgo de rotura de una forma más eficaz.

El desplazamiento del tendón en milímetros evalúa lo que el tendón es capaz de ceder antes de que se rompa al aplicar la carga máxima. Analizando nuestros resultados, los tendones de los hombros intervenidos soportan un menor desplazamiento del tendón antes de romperse (5,433 mm – DS: 1,2974) con respecto a los tendones sanos (6,650 mm – DS: 2,4016), por lo tanto, son más rígidos. Además, al aportar MSC (5,533 mm – DS: 1,4405) o HTS (5,333 mm – DS: 1,1927), no somos capaces de mejorar esta característica biomecánica del tendón.

Por último, la variable «pendiente» o también conocida como 'constante elástica' evalúa la elasticidad del mismo de una forma estimada, de tal forma que a mayor pendiente, menor será la elasticidad del tendón evaluado. Analizando nuestros resultados, la pendiente de los tendones sanos (16,97 N/mm – DS: 4,76) es muy similar a la pendiente de los tendones intervenidos (16,06 N/mm – DS: 4,56).

Analizando la bibliografía, vemos que Shin et al. observaron que a 4 las semanas la biomecánica tendinosa del grupo tratado con células obtuvo puntuaciones más altas, siendo este resultado estadísticamente significativo²⁹. Kaizawa et al. quienes ya tenían un estudio previo en el que implantaban un hidrogel rico en colágeno tipo I (tHG) en un modelo de lesión crónica, y concluían con resultados estadísticamente significativos la mejoría de las propiedades biomecánicas del tendón, quisieron seguir en esa misma línea, pero esta vez añadiendo ASC sobre el hidrogel, para comprobar si mejoraba aún más las propiedades cicatriciales del tendón²⁸. Para su estudio analizaron 2 variables, la carga hasta el fallo en newton, y la elasticidad medida en N/mm. Realizaron el estudio a las 8 semanas tras la reparación, objetivando que la carga máxima hasta la rotura era significativamente mayor en el grupo tHGASC y el tHG con respecto al control. Con respecto a la rigidez ocurre lo mismo, obteniendo diferencias estadísticamente significativas en los grupos tHGASC y tHG con respecto al grupo control. Las ASC solo mejoraron de forma estadísticamente significativa la morfometría ósea del lugar de inserción, pero no mejoró la cicatrización biomecánica ni histológica del tendón supraespinoso.

En un estudio realizado previamente por nuestro grupo, Tornero-Esteban et al. analizaron el impacto biomecánico que podía tener el aporte de MSC sobre un transportador de colágeno tipo I (OrthADAPT) en un modelo de lesión crónica del manguito en ratas. Al igual que en nuestro trabajo, analizaron la carga máxima, el grado de desplazamiento del tendón y la constante elástica del mismo. Sus resultados concluyen que la carga máxima del tendón aumenta según va avanzando el tiempo, y con ella la resistencia tendinosa (en el grupo OrthADAPT + MSC). Con respecto a la rigidez y la

deformidad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas¹⁴. Sin embargo, en el estudio publicado posteriormente por Lamas et al. en humanos, observamos que el uso de un transportador podía ocasionar efectos adversos en el paciente, motivo por el cual en este trabajo decidimos prescindir del uso de un transportador y aprovechar las características paracrinas que nos ofrecen las MSC³⁰.

Las limitaciones que nos podemos encontrar, como en la mayor parte de los estudios experimentales, es el reducido tamaño muestral para cada grupo. Inicialmente, el cálculo del tamaño muestral se realizó en base a la resistencia tendinosa, y no en base a la escala histológica del tendón, por lo tanto, no podemos estar seguros de que la falta de resultados en este punto se deba a que efectivamente no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos, o a que, el tamaño muestral sea insuficiente. Además, la incapacidad de controlar el grado de retracción tendinosa tras la generación de la lesión crónica podría condicionar la tasa de roturas o la curación biológica del mismo. La evaluación histológica, a pesar de haberla realizado de forma ciega y por dos investigadores, cuenta con la desventaja de que ciertos parámetros se puedan ver alterados por la varianza histológica en el lugar del tendón del corte realizado.

Conclusiones

A pesar de que la capacidad reguladora y mediadora de las MSC a través de su efecto paracrino es cada vez más evidente, la adición de células derivadas de tejido adiposo como medicamento de terapia celular en suspensión sobre la sutura no mejora las características histológicas ni biomecánicas del tendón lesionado de nuestro modelo de lesión crónica en ratas.

Nivel de evidencia

Nivel de evidencia I.

Financiación

Este trabajo ha sido realizado gracias al proyecto de Investigación financiado por el Instituto Carlos III, Madrid (FIS) CIF: G83727115 Expediente PI16/00549.

Conflicto de intereses

La co-autora Yaiza López forma parte del comité editorial de la revista, pero no ha participado en el proceso de revisión ciega ni de toma de decisión del artículo.

Los autores declaran que no existe conflicto de interés respecto a la obtención del medicamento de terapia celular ni con el uso del excipiente de la marca HypoThermosol-FRS®.

Bibliografía

1. Yamaguchi K, Ditsios K, Middleton WD, Hildebolt CF, Galatz LM, Teefey SA. The demographic and morphological features of

- rotator cuff disease. A comparison of asymptomatic and symptomatic shoulders. *J Bone Joint Surg Am.* 2006;88:1699–704, <http://dx.doi.org/10.2106/JBJS.E.00835>.
2. Ryan J, Leiphart JBN, Louis J. Soslowsky Preclinical knowledge of rotator cuff tendons and healing. En: Nicholson GP, editor. *Orthopaedic Knowledge Update 5 - Shoulder and Elbow: American Academy of Orthopaedic Surgeons - AAOS*; 2021. p. 13–28. ISBN 978-1-9751-4773-0.
3. Keisuke Matsuki HS. Anatomy pathogenesis natural history and nonsurgical management of rotator cuff disorders. En: Nicholson GP, editor. *Orthopaedic Knowledge Update 5 - Shoulder and Elbow: American Academy of Orthopaedic Surgeons. AAOS*; 2021. p. 151–63. ISBN 978-1-9751-4773-0.
4. Neer CS 2nd. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder: A preliminary report. *J Bone Joint Surg Am.* 1972;54:41–50.
5. Bigliani LU, Ticker JB, Flatow EL, Soslowsky LJ, Mow VC. The relationship of acromial architecture to rotator cuff disease. *Clin Sports Med.* 1991;10:823–38.
6. Galatz LM, Sandell LJ, Rothermich SY, Das R, Mastny A, Havlioglu N, et al. Characteristics of the rat supraspinatus tendon during tendon-to-bone healing after acute injury. *J Orthop Res.* 2006;24:541–50, <http://dx.doi.org/10.1002/jor.20067>.
7. Valencia Mora M, Ruiz Iban MA, Diaz Heredia J, Barco Laakso R, Cuellar R, Garcia Arranz M. Stem cell therapy in the management of shoulder rotator cuff disorders. *World J Stem Cells.* 2015;7:691–9, <http://dx.doi.org/10.4252/wjsc.v7.i4.691>.
8. Zhang C, Wu J, Li X, Wang Z, Lu WW, Wong TM. Current Biological Strategies to Enhance Surgical Treatment for Rotator Cuff Repair. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9:657584, <http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2021.657584>.
9. Lopiz Morales Y, García Fernández C, Vega ML, Marco F. Evaluación clínico-ecográfica de la reparación quirúrgica de las roturas del manguito rotador. *Trauma Fund MAPFRE.* 2010;21:91–6.
10. Lafosse L, Brozka R, Toussaint B, Gobeze R. The outcome and structural integrity of arthroscopic rotator cuff repair with use of the double-row suture anchor technique. *J Bone Joint Surg Am.* 2007;89:1533–41, <http://dx.doi.org/10.2106/JBJS.F.00305>.
11. Gulotta LV, Kovacevic D, Ehteshami JR, Dagher E, Packer JD, Rodeo SA. Application of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rotator cuff repair model. *Am J Sports Med.* 2009;37:2126–33, <http://dx.doi.org/10.1177/0363546509339582>.
12. Gulotta LV, Kovacevic D, Packer JD, Deng XH, Rodeo SA. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells transduced with scleraxis improve rotator cuff healing in a rat model. *Am J Sports Med.* 2011;39:1282–9, <http://dx.doi.org/10.1177/0363546510395485>.
13. Rodríguez-Bobada C. Desarrollo de un modelo experimental de lesión-reparación del manguito rotador en rata para evaluación de procedimientos en clínica humana. Madrid: Universidad Complutense; 2013.
14. Tornero-Esteban P, Hoyas JA, Villafuertes E, Rodríguez-Bobada C, Lopez-Gordillo Y, Rojo FJ, et al. Efficacy of supraspinatus tendon repair using mesenchymal stem cells along with a collagen I scaffold. *J Orthop Surg Res.* 2015;10:124, <http://dx.doi.org/10.1186/s13018-015-0269-6>.
15. Arvinus C. Estudio de la reparación de las lesiones del manguito rotador mediante compuestos transportador-BMP. Madrid: Universidad Complutense; 2018.
16. Arvinus C, Civantos A, Rodríguez-Bobada C, Rojo FJ, Perez-Gallego D, Lopiz Y, et al. Enhancement of in vivo supraspinatus tendon-to-bone healing with an alginate-chitin scaffold and rhBMP-2. *Injury.* 2021;52:78–84, <http://dx.doi.org/10.1016/j.injury.2020.11.019>.
17. Lopiz Y, Arvinus C, Garcia-Fernandez C, Rodriguez-Bobada MC, Gonzalez-Lopez P, Civantos A, et al. Repair of rotator cuff injuries using different composites. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol.* 2017;61:51–62, <http://dx.doi.org/10.1016/j.recot.2016.07.002>.
18. Fink B. Reconstrucción de la rotura crónica del músculo glúteo medio mediante un parche no reabsorbible. *Orthop Traumatol.* 2013;22:1–7.
19. Astrom M, Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *Clin Orthop Relat Res.* 1995:151–64.
20. Schrepfer S, Deuse T, Reichenspurner H, Fischbein MP, Robbins RC, Pelletier MP. Stem cell transplantation: The lung barrier. *Transplant Proc.* 2007;39:573–6, <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2006.12.019>.
21. Hocking AM, Gibran NS. Mesenchymal stem cells: Paracrine signaling and differentiation during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res.* 2010;316:2213–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2010.05.009>.
22. Tornero Esteban P JAH, Villafuertes E, Rodríguez Bobada C, Gustavo Víctor Guinea Tortuero, Yaiza López Morales, Benjamín Fernández Gutiérrez, Fernando Marco Martínez. Tratamiento comparado de las lesiones del manguito rotador mediante el uso de células madre mesenquimales en combinación con membranas de colágeno tipo I. *Trauma.* 2012;23 Supl. 1:70–5.
23. Valencia Mora M, Antuna S, Garcia Arranz M, Carrascal MT, Barco R. Application of adipose tissue-derived stem cells in a rat rotator cuff repair model. *Injury.* 2014;45 Suppl 4:S22–7, [http://dx.doi.org/10.1016/S0020-1383\(14\)70006-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0020-1383(14)70006-3).
24. Barco R, Encinas C, Valencia M, Carrascal MT, Garcia-Arranz M, Antuna S. Use of adipose-derived stem cells in an experimental rotator cuff fracture animal model [Article in Spanish]. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol.* 2015;59:3–8.
25. Chen HS, Su YT, Chan TM, Su YJ, Syu WS, Harn HJ, et al. Human adipose-derived stem cells accelerate the restoration of tensile strength of tendon and alleviate the progression of rotator cuff injury in a rat model. *Cell Transplant.* 2015;24:509–20, <http://dx.doi.org/10.3727/096368915X686968>.
26. Lipner J, Shen H, Cavinatto L, Liu W, Havlioglu N, Xia Y, et al. In Vivo Evaluation of Adipose-Derived Stromal Cells Delivered with a Nanofiber Scaffold for Tendon-to-Bone Repair. *Tissue Eng Part A.* 2015;21:2766–74, <http://dx.doi.org/10.1089/ten.TEA.2015.0101>.
27. Rothrauff BB, Smith CA, Ferrer GA, Novaretti JV, Pauyo T, Chao T, et al. The effect of adipose-derived stem cells on entheses healing after repair of acute and chronic massive rotator cuff tears in rats. *J Shoulder Elbow Surg.* 2019;28:654–64, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jse.2018.08.044>.
28. Kaizawa Y, Franklin A, Leyden J, Behn AW, Tulu US, Sotelo Leon D, et al. Augmentation of chronic rotator cuff healing using adipose-derived stem cell-seeded human tendon-derived hydrogel. *J Orthop Res.* 2019;37:877–86, <http://dx.doi.org/10.1002/jor.24250>.
29. Shin MJ, Shim IK, Kim DM, Choi JH, Lee YN, Jeon IH, et al. Engineered Cell Sheets for the Effective Delivery of Adipose-Derived Stem Cells for Tendon-to-Bone Healing. *Am J Sports Med.* 2020;48:3347–58, <http://dx.doi.org/10.1177/0363546520964445>.
30. Lamas JR, Garcia-Fernandez C, Tornero-Esteban P, Lopiz Y, Rodriguez-Rodriguez L, Ortega L, et al. Adverse effects of xenogenic scaffolding in the context of a randomized double-blind placebo-controlled study for repairing full-thickness rotator cuff tears. *Trials.* 2019;20:387, <http://dx.doi.org/10.1186/s13063-019-3504-3>.