



**GRUPOBIOS**  
CIENCIA Y CREACION DE VALOR

# **BIOSTEMCELL KIT**

**SISTEMA CONCENTRADOR DE  
CÉLULAS MONONUCLEARES DE MEDULA ÓSEA**

# ASPECTOS GENERALES

## Células madres mesenquimáticas (MSCs) de medula ósea.

Las células madres o *stem cells* (SC) se definen como aquellas células que pueden diferenciarse en células progenitoras con más de un fenotipo de diferenciación y que, además, pueden expandirse en forma indiferenciada. Las células madres adultas multipotenciales, se encuentran en individuos ya desarrollados en diversos órganos y tejidos, siendo la fuente más estudiada la médula ósea (MO) (1,2). La MO es un tejido complejo, sinusoidal y bien organizado que se encuentra en la cavidad medular de los huesos largos, del esternón, de los huesos de la cadera y de las vértebras esponjosas, constituyendo uno de los mayores tejidos del cuerpo (3). La MO contiene dos grupos específicos bien conocidos y caracterizados de células madres multipotentes. Un grupo está representado por las células multipotentes hematopoyéticas (*hematopoietic stem cells*, HSC), precursoras de distintas líneas celulares sanguíneas que son muy utilizadas en el ámbito clínico como tratamiento de diversas patologías hematológicas. El otro grupo de células madres multipotentes son las células mesenquimáticas (*mesenchymal stem cells*). Las MSCs fueron inicialmente aisladas por Friedenstein A., et al. (4) y posteriormente por otros investigadores, basados en la capacidad de estas células para adherirse a las superficies de plástico. Estudios realizados hace más de una década, demostraron que las MSCs aisladas de la médula ósea humana, poseen la capacidad de auto-renovación y un potencial de diferenciarse en osteocitos, condrocitos, y adipocitos (5). Esta fue la primera vez que las MSCs humanas adultas fueron manipuladas exitosamente *ex vivo*, lo cual marcó una nueva era para la “terapia basada en células madres”. Posteriormente, una serie de estudios publicados han demostrado que las células madres presentes en la médula ósea forman otros tipos de tejidos o células, incluyendo hepatocitos, cardiomiocitos, células musculares, neuronas y células cerebrales (6,7).

## Fundamentos para la utilización de células madres en clínica.

En los tratamientos de diversas patologías, idealmente, se prefiere la reparación de las estructuras dañadas con neotejidos de características similares a las originales. Este objetivo se ha intentado alcanzar a través de la aplicación de terapias regenerativas celulares (TRC). Desde que en 1867 Julius Cohnheim postulara la hipótesis que la reparación de tejidos en los mamíferos era dependiente de células presentes en el torrente sanguíneo, los científicos han intentado identificar dichas células (8). Con el descubrimiento de las células madres, el interés biológico y clínico ha aumentado de forma espectacular en las últimas dos décadas, como lo demuestra el creciente número de equipos de investigación que estudian estas células, lo cual sin duda acelerará el descubrimiento científico y el desarrollo de nuevas terapias celulares.

Actuales aplicaciones clínicas de las células madre adultas son el uso de las MSCs para tratar:

- Isquemia crítica de extremidades inferiores (9,10)
- Infarto agudo al miocardio (11,12)
- Esclerosis lateral amiotrófica (13,14)
- Regeneración dental (15)
- Insuficiencia hepática (16)
- Defectos osteocondrales (17,18)

## Utilización de células madres mesenquimáticas en ortopedia y traumatología.

### ***Lesiones osteocondrales***

Las lesiones osteocondrales, precursoras de artrosis, son la principal causa de incapacidad funcional en mayores de 18 años (19), por lo tanto, constituyen condiciones altamente prevalentes. Los tratamientos disponibles en la actualidad no han logrado alcanzar la regeneración permanente del cartílago hialino afectado, ya que originan un tejido de características mecánicas inferiores al original. Diversos estudios han utilizado células mononucleares de médula ósea o MSCs cultivadas y expandidas *in vitro* como tratamiento en TRC. La evidencia disponible demuestra que la utilización de estas células ha sido capaz de reparar de manera permanente lesiones osteocondrales en rodillas, tobillos y cadera incluso las de gran tamaño (20,21,22,23).

### ***Necrosis avascular de cabeza femoral***

El uso de las MSCs se presenta como la terapia ideal para el tratamiento de la necrosis avascular (NAV) de cabeza femoral, ya que estas células bajo estímulos específicos serían capaces de diferenciarse en tejido óseo y cartilaginoso, restaurando la arquitectura normal del extremo proximal del fémur.

La evidencia científica disponible en los últimos años, respalda la utilización de las células mononucleares de médula ósea (en donde se encuentran las MSCs) como tratamiento de la NAV. Por ejemplo, en un estudio publicado el año 2004 se evaluaron 18 caderas de 13 pacientes con etapas iniciales de NAV, en forma aleatoria se usó descompresión ósea o descompresión ósea más células mononucleares de médula ósea, determinándose que la TRC evitó la progresión radiológica de la enfermedad y disminuyó el dolor en los pacientes en un seguimiento por 2 años (24).

El año 2005 aparece la primera revisión sobre la utilización de estas células para el tratamiento de NAV, concluyéndose que este nuevo enfoque terapéutico disminuye la progresión de la enfermedad y la necesidad de cirugía protésica de cadera (25). Resultados similares han sido publicados en los años 2008 y 2009 incluyendo un estudio con 342 pacientes (534 caderas) con seguimiento entre 8 y 18 años que demostró que el tratamiento con células mononucleares de médula ósea evita la progresión de la enfermedad y que puede ser exitoso en etapas más avanzadas de le NAV (26,27).

### ***Defectos de consolidación ósea***

La técnica de referencia actual para estimular la osteogénesis en diferentes patologías (retardos de consolidación y/o pseudoartrosis y las fusiones espinales) es el autoinjerto obtenido de la cresta iliaca el cual ha sido exitoso en el 95% de los casos (28). Sin embargo, este injerto tiene dos grandes problemas reconocidos internacionalmente: dolor crónico en la zona del injerto y una cantidad disponible limitada (29). Debido a estos motivos se han desarrollado sustitutos óseos para aumentar el volumen de injerto y en algunos casos reemplazarlo completamente y así promover la osteogénesis (30). Dada la potencialidad osteogénica reconocida de las MSCs, su utilización plantea ventajas sobre otras alternativas que reemplazan el autoinjerto.

Para la pseudoartrosis existe escasa evidencia internacional sobre la utilización de MSCs para el tratamiento de estas patologías. A nivel nacional, el grupo de investigadores de los doctores Mardones y Martínez ha tratado 3 pacientes con pseudoartrosis de fémur con células mononucleares de médula ósea con seguimiento en promedio a 2 años (1-3 años). En los pacientes se consiguieron signos clínicos y radiológicos de consolidación ósea antes de 6 meses (31).

En relación a la fusión espinal, la cual es usada comúnmente para tratar deformidades del adulto o del niño, inestabilidades segmentarias espinales, espondilolistesis o enfermedades degenerativas espinales, es fundamental conseguir una osteogénesis que permita una fusión sólida para el éxito quirúrgico de estos pacientes. Dadas sus potencialidades, las MSCs aparecen como una alternativa interesante para esta patología.

# BIOSTEMCELL KIT

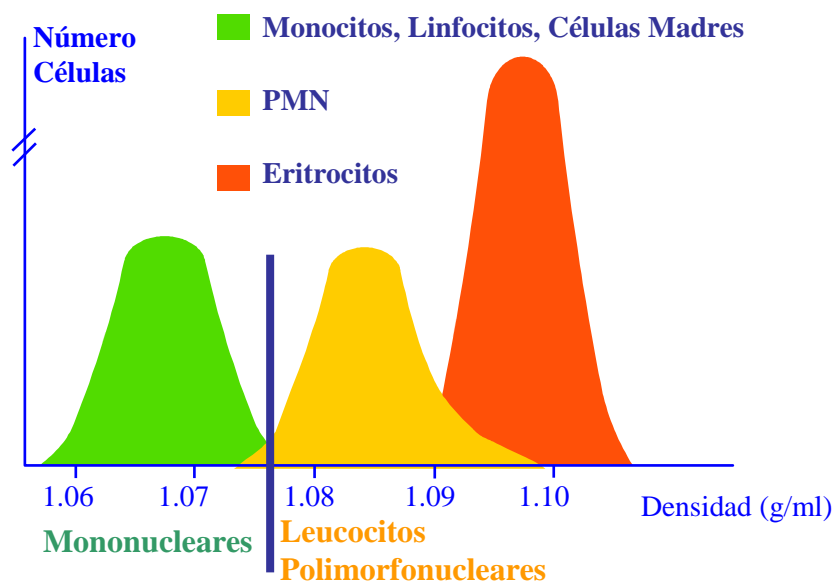
## Descripción.

BioStemCell Kit es un sistema diseñado para ser utilizado en forma profesional, con el fin de separar y concentrar células mononucleares de médula ósea mediante un proceso seguro y eficiente, asegurando que las células mantengan su integridad y propiedades intactas.

El sistema incluye los insumos en condiciones estériles y un protocolo estandarizado y validado para la preparación de un concentrado de células mononucleares, además, de la disponibilidad de uso de una centrifuga que será proporcionada cada vez que se realice un procedimiento.

## Fundamento.

BioStemCell Kit separa y concentra células mononucleares (monocitos, linfocitos y células madres) a partir de medula ósea, basándose en un método sencillo y eficaz: la separación por gradiente de densidad. Las células mononucleares presentan una menor densidad que los eritrocitos y los leucocitos polimorfonucleares (PMN), lo cual permite separarlas y concentrarlas por centrifugación. La separación se realiza utilizando un medio isoosmótico con una densidad que permite que los eritrocitos y los PMN sedimenten a través del medio, mientras que las células mononucleares permanecen en la interfase. El método es rápido, sencillo, fiable y da excelentes resultados permitiéndonos obtener una suspensión de células mononucleares concentrada con niveles mínimos de contaminación con eritrocitos (3-10%).



## Bibliografía.

- (1) Baksh D., et al. (2004). Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 8: 301-316.
- (2) Kern S., et al. (2006). Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stemcells*, 24: 1294-1301.
- (3) Bianchi de di Rasio C., et al. (2004). Células mesenquimales de medula ósea. *Medicina*, 64: 543-549.
- (4) Friedenstein A., et al. (1976). Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Experimental Hematology*, 4: 267-274.
- (5) Pittenger M., et al. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284: 143-147.
- (6) Hung S., et al. (2002). Isolation and Characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow. *Stemcells*, 20: 249-258.
- (7) Kastrinak M., et al. (2008). Isolation of human bone marrow mesenchymal stem cells using different membrane markers: comparison of colony=cloning efficiency, differentiation potential, and molecular profile. *Tissue Engineering, Part C*; 14: 333-339.
- (8) Vaananen H., et al. (2005). Mesenchymal stem cells. *Annals of Medicine*, 37: 469-479.
- (9) Kamata Y., et al. (2007). Local implantation of autologous mononuclear cells from bone marrow and peripheral blood for treatment of ischaemic digits in patients with connective tissue diseases. *Rheumatology (Oxford)*, 46: 882-884.
- (10) Gu Y., et al. (2008). Transplantation of autologous bone marrow mononuclear cells for patients with lower limb ischemia. *Chinese Medical Journal*, 121: 963-967.
- (11) Sant'Anna R., et al. (2010). Global contractility increment in non-ischemic dilated cardiomyopathy after free wall only intramyocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells: an insight over stem cells clinical mechanism of action. *Cell Transplant*. Jun 11 (En prensa).
- (12) Obradović S., et al. (2004). Autologous bone marrow derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Vojnosanitetski Pregled*, 61: 519-529.
- (13) Mazzini L., et al. (2010). Mesenchymal stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: a phase I clinical trial. *Experimental Neurology*, 223: 229-237.

- (14) Mazzini L., et al. (2008). Stem cell treatment in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 265: 78-83.
- (15) Shayesteh Y., et al. (2008). Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 106: 203-209.
- (16) Lyra A., et al. (2007). Feasibility and safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with advanced chronic liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 13: 1067-1073.
- (17) Giannini S., et al. (2009). One-step bone marrow-derived cell transplantation in talar osteochondral lesions. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 467: 3307-3320.
- (18) Kuroda R., et al. (2002). Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. *Osteoarthritis Cartilage*, 10: 432-463.
- (19) Buckwalter J., et al. (2004). The impact of osteoarthritis: implications for research. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (427 Suppl): p. S6-15.
- (20) Giannini S., et al. (2009). One-step bone marrow-derived cell transplantation in talar osteochondral lesions. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 467: 3307-3320.
- (21) Kuroda R., et al. (2007). Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. *Osteoarthritis Cartilage*, 15: 226-231.
- (22) Mardones R., et al. (2007). Major osteochondral defect (icrs 4) treated with autologous bone marrow mononuclear cell fraction in a collagen type ii extracellular matrix. *ICRS 7<sup>th</sup> World Congress*.
- (23) Mardones R., et al. (2009). Major osteochondral defect (icrs 4 > 10cm<sup>2</sup>) treated with autologous bone marrow mesenchymal stem cells induced in vitro to chondrogenic differentiation: two-year follow-up results. *ICRS 8<sup>th</sup> World Congress*.
- (24) Gangji V., et al. (2004). Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone marrow cells. A pilot study. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 86-A: 1153-1160.
- (25) Gangji V., et al. (2005). Stem cell therapy for osteonecrosis of the femoral head. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 5: 437-442.
- (26) Hernigou P., et al. (2009). Cell therapy of hip osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Indian journal of orthopaedics*, 43: 40-45.

(27) Wang B., et al. (2010). Treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head with the implantation of core decompression and concentrated autologous bone marrow containing mononuclear cells. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 130: 859-865.

(28) Steinman J., et al. (1992). Pseudarthrosis of the spine. *Clinical Orthopaedics*, 284: 80-90.

(29) Younger E., et al. (1989). Morbidity at bone graft donor sites. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 3: 192-195.

(30) Burkus J., et al. (2002). Clinical and radio-graphic outcomes of anterior lumbar interbody fusion using recombi- nant human bone morphogenetic protein-2. *Spine*, 27: 2396-2408.

(31) Martínez R., et al. (2009). Tratamiento de pseudoartrosis supracondilea de fémur con concentrado de células mononucleares de médula ósea: resultados a 1 año de seguimiento. *XLV Congreso Chileno de Ortopedia y Traumatología*.

**Manufacturado por**

GrupoBios SA

Avenida Zañartu 1482, Ñuñoa, Santiago, Chile.

Fono: 562 473 6100 / Fax: 562 239 4250

[www.grupobios.cl](http://www.grupobios.cl)

**ISO** 9001:2008  
13485:2003