

Título: “Trasplante autólogo de células madres de medula ósea al disco intervertebral”. Estudio abierto.

Autores: [Horacio Inocencio Tabares Neyra*](#), Juan Miguel Díaz Quesada**, Horacio Tabares Sáez***, Laura Tabares Sáez***.

* Especialista de II Grado en Ortopedia y Traumatología, Profesor Auxiliar de la Facultad “Calixto García”. Jefe de Cirugía del Centro de Investigaciones en Longevidad, Envejecimiento y Salud.

** Especialista de II Grado en Ortopedia y Traumatología, Profesor Auxiliar de la Facultad “Calixto García”. Jefe del Servicio de Ortopedia y Traumatología. Hospital General Docente “Calixto García”.

*** Alumnos Ayudantes del Dpto. de Cirugía, estudiantes de 4to Año de Medicina.

Editorial: Calle G y 27, Vedado, Municipio Plaza de la Revolución.
CP 10400.

geroinfo@infomed.sld.cu

Centro de Investigaciones sobre: “Envejecimiento, Longevidad y Salud”

Summary

Purpose: We performed stem cell transplantation in seven patients diagnosed with degenerative intervertebral disc one to evaluate the safety and tolerance of the procedure to the transplanted cells.

Methods: The cells were extracted from the patient's own bone marrow, isolated by Ficoll-Hypaque method and implemented on selected drives and grades II and III classification Pfirrmann resonance imaging. Se evaluaron los resultados al año del injerto. Results were evaluated annually graft. **Results:** There were no significant adverse events resulting from the procedure or cell graft, with the use of the Oswestry index were evaluated as beneficial clinical outcomes, and the possible improvement in MRI before and one year later. El pequeño número de pacientes impidió llegar a conclusiones definitivas. The small number of patients precluded definitive conclusions. **Conclusion:** Our results demonstrate that stem cells obtained from a patient's own bone marrow can be transplanted safely, with excellent tolerance and hassle using the method described.

Key words: stem cell transplantation, intervertebral disc degeneration, tolerance, side effects.

Resumen

Propósito: Se realizó el trasplante de células madres en siete pacientes diagnosticados con enfermedad degenerativa de un solo disco intervertebral para evaluar la seguridad del proceder y la tolerancia a las células trasplantadas.

Método: Las células fueron extraídas de medula ósea del propio paciente, aisladas por el método de Ficoll-Hypaque e implantadas en los discos seleccionados como grados II y III de la clasificación de Pfirrmann por imágenes de resonancia. Se evaluaron los resultados al año del injerto. **Resultados:** No se registraron eventos adversos importantes derivados del procedimiento ni del injerto de células; con la utilización del índice de Oswestry se evaluaron los resultados clínicos como beneficiosos, así como la posible mejoría en las IRM antes y un año después. El pequeño número de pacientes impidió llegar a conclusiones definitivas. **Conclusión:** Nuestros resultados demuestran que las células madres obtenidas de medula ósea del propio paciente pueden ser trasplantadas de manera segura, con excelente tolerancia y sin complicaciones usando el método descrito.

Palabras claves: Células madres, trasplante, degeneración del disco intervertebral, tolerancia, efectos adversos.

Introducción

La alta prevalencia de las enfermedades degenerativas, así como su alto costo social y económico ha llevado a la búsqueda de terapias efectivas para enfrentar las consecuencias de las mismas, lo que constituye uno de los más importantes aspectos dentro de las investigaciones biomédicas actuales. Por poseer características distintivas y repercutir de manera importante sobre la calidad de vida de los pacientes con una incidencia que cada día es mayor, la enfermedad degenerativa del disco intervertebral es un problema no resuelto al que se enfrentan muchos cirujanos ortopédicos y neurocirujanos. ^(1,2)

Dentro de las estrategias más utilizadas actualmente se destaca la utilización de células madres autólogas de diversos orígenes que son trasplantadas al área afectada con la intención de restaurar los tejidos dañados a través de la diferenciación y proliferación celular. ⁽³⁻⁵⁾

El trasplante de células madres obtenidas de medula ósea a sido empleado en la clínica para tratar afecciones óseas, infartos miocárdicos, insuficiencias vasculares periféricas e incluso accidentes vasculares encefálicos y aunque in vitro o en animales los resultados han sido esperanzadores, no ocurre lo mismo en personas.⁽⁶⁻¹¹⁾ En nuestro país algunos investigadores del CIREN y el Instituto de Hematología e Inmunología han trabajado en esta línea de trasplante de células madres originarias de medula ósea al cerebro, demostrando la seguridad, excelente tolerancia y ausencia de complicaciones del procedimiento. También se ha empleado el trasplante de células madres en el tratamiento de la isquemia severa de miembros inferiores.^(12, 13)

El proceder de utilizar células autólogas posee la ventaja adicional de minimizar las posibles reacciones inmunes asociadas al injerto, además de que la medula ósea constituye una prácticamente ilimitada fuente de células reconocido por varios autores.⁽¹⁴⁻¹⁷⁾

La idea de trasplantar células del propio individuo al disco intervertebral las cuales puedan diferenciarse en células nucleares y producir matriz intercelular regenerando el mismo y recuperando su función es sin lugar a dudas una de las más novedosas investigaciones en este campo. Con estos criterios se han realizado múltiples investigaciones tanto en animales como en humanos.⁽¹⁸⁻²²⁾

Fue nuestro propósito en este trabajo determinar la seguridad del procedimiento y la tolerancia en la implantación de células madres autólogas de medula ósea en discos intervertebrales lumbares, así como evidenciar mediante la aplicación de test funcional e imágenes de resonancia magnética los posibles efectos beneficiosos de dicha implantación.

Método

Se realizó un estudio prospectivo limitado unicéntrico tipo serie de casos con siete pacientes atendidos por el diagnóstico de enfermedad degenerativa discal lumbar en el: Centro de investigaciones en Longevidad, Envejecimiento y Salud (CITED)

en los meses de Julio, Agosto y Septiembre del 2010 para determinar la seguridad y tolerancia del trasplante autólogo de células madres obtenidas de medula ósea, así como evidenciar los efectos beneficiosos clínicos y sobre las imágenes de resonancia del disco intervertebral al año de realizado el proceder.

Fueron seleccionados todos los pacientes entre 30 y 60 años de edad que concurrieron a la consulta de Ortopedia refiriendo dolor en la espalda baja con o sin irradiación a miembros inferiores, trastornos sensitivos o motores en muslo, piernas y pies, y a los cuales se les indico estudio de Resonancia Magnética de la columna lumbar. Las IRM fueron clasificadas según el grado de degeneración discal tomando en cuenta los criterios de Pfirrmann.⁽²³⁾

Los pacientes fueron seleccionados por cumplir los criterios previos establecidos de inclusión y exclusión: Se incluyeron los pacientes con degeneración lumbar monodiscal leve a moderada correspondiente a los grados II y III de la clasificación de Pfirrmann; fueron excluidos pacientes con enfermedades crónicas (ej. Cardiopatías, hepáticas, renales), deterioro cognitivo severo, enfermedad psiquiátrica o que se negaron a participar en el estudio.

Este estudio fue aprobado por el comité de bioética de la institución y cumple lo establecido por la Comisión Nacional de Ética Médica de Cuba. Siempre se obtuvo por escrito el consentimiento informado para participar del estudio después que los pacientes recibieron una detallada explicación acerca del procedimiento, los posibles riesgos y beneficios, así como su derecho de abandonar el estudio en cualquier momento sin necesidad de notificarlo. La confidencialidad de los datos de identificación personal de los pacientes fue preservada.

A todos los pacientes se les aplicó como escala de medida clínica el índice de discapacidad de Oswestry⁽²⁴⁾ antes del procedimiento y un año después de realizado el mismo para comparar los resultados, igualmente se repitió la IRM en igual periodo de tiempo con vistas a evaluar posibles cambios imaginológicos en el disco intervertebral.

El procedimiento para la obtención de las células madres de medula ósea para trasplantar fue el siguiente: El día anterior al trasplante en salón de operaciones con condiciones de asepsia y bajo sedación con empleo de propofol 1 % (1,5 a 2,5 mg/Kg de peso corporal) se aspiran 100 ml de medula ósea de la cresta iliaca que son trasladados al laboratorio para ser procesados; las células mononucleares son aisladas a través del método de gradientes de densidad de Ficoll-Hypaque y suspendidas en una solución salina heparinizada (10 000 UI/L) a 4°C acorde con el procedimiento utilizado en el Instituto Cubano de Hematología e Inmunología. ⁽¹³⁾

El concentrado de células mononucleares es trasplantado al disco intervertebral afectado igualmente bajo condiciones de asepsia y sedación del paciente en el salón de operaciones con empleo de catéter No. 22 largo y con ayuda de intensificador de imágenes que garantiza la correcta ubicación en el espacio determinado en la planificación previa.



Cualquier condición médica observada en los pacientes después de la cirugía y en un año de seguimiento fue anotada y descrita. Estos eventos se clasificaron según su posible relación con el proceder o el trasplante celular en: **relacionada, posible relación, poco relacionada o ninguna relación.**

Resultados

Conforme al propósito declarado fueron reclutados de manera secuencial probabilística siete pacientes comprendidos todos ellos entre los 30 y los 45 años

de edad de los cuales cuatro correspondieron al sexo femenino y tres al masculino, los detalles de la distribución estructural de esta serie se pueden apreciar en la tabla 1, donde además es significativa la distribución muy semejante entre las razas blanca y mestiza con tres casos en cada una.

En relación con el tiempo de evolución del padecimiento referido por los pacientes se encontró que la mayoría refirieron un tiempo mayor a los 18 meses, y solo un paciente reconoció padecer sintomatología de más de 24 con 30 meses.

Tabla 1. Características de los pacientes incluidos en este estudio

No Caso	Edad (años)	Sexo (m,f)	Raza (B,M,N)	Tiempo de evolución (meses)
1	39	M	blanca	24
2	43	F	mestiza	17
3	32	F	blanca	24
4	30	M	mestiza	12
5	45	F	negra	18
6	40	M	blanca	30
7	37	F	mestiza	18

Fuente: Historias clínicas

El implante quirúrgico de las células mononucleares en los espacios discales seleccionados en cada paciente se realizó sin complicaciones el día siguiente a su extracción de la medula ósea. Las células fueron implantadas en los discos intervertebrales sin que ocurrieran complicaciones transoperatorias.

El volumen inyectado guardo relación con la localización anatómica del disco intervertebral donde se determinó realizar el trasplante, la tabla 2 muestra dicha relación correspondiendo mayor volumen a los discos localizados entre L5-S1 y lógicamente menor al disco entre L3-L4. Es muy significativo además que los discos intervertebrales seleccionados en nuestra serie se correspondieran proporcionalmente con los de mayor movimiento en la región lumbar de la columna vertebral.

Tabla 2. Localización anatómica y volumen inyectado

No caso	Localización anatómica	Volumen inyectado
1	L4-L5	1,2 ml
2	L5-S1	1,7 ml
3	L4-L5	0,9 ml
4	L5-S1	1,8 ml
5	L5-S1	1,5 ml
6	L3-L4	0,7 ml
7	L5-S1	1,7 ml

Fuente: Historias clínicas

Es importante destacar que no ocurrió ninguna infección neurológica, y los principales eventos adversos observados pueden apreciarse en la tabla 3 donde es significativo la existencia en todos los casos de dolor tanto en el sitio de extracción en la pelvis como en el de punción de la región lumbar para penetrar el catéter y acceder al disco intervertebral lo cual fue clasificado como evento adverso **relacionado** con el procedimiento, este dolor desapareció aproximadamente a los diez días del posoperatorio, en tres pacientes apareció irritación cutánea derivada del contacto con la solución antiséptica empleada lo que se consideró como **posible relación** con el procedimiento y que desapareció en todos los casos a las 48 horas posquirúrgicas.

Uno de nuestros pacientes mostro infección superficial del sitio de introducción del catéter, lo cual fue tratado con antibióticos orales y resolvió en 48 horas, un paciente presento febrículas que al no existir otro síntoma se interpretó como con **ninguna relación** con el procedimiento, Tres casos refirieron trastornos sensitivos iniciales en el dermatoma de la raíz cercana lo cual desapareció a las 48 horas y se interpretó en **relación** con el procedimiento, Un caso presento cifras tensiionales elevadas en el posoperatorio inmediato que se clasifico como **poco relacionada** y se controló en menos de 48 horas y otro paciente mostró cifras elevadas de glicemia que igualmente se resolvió en 48 horas y que no se pensó tuviera relación alguna con el procedimiento.

Tabla 3. Sumario de los eventos adversos recogidos en cada paciente

Evento adverso	Casos con el evento	Desapareció en 48 horas	Desapareció en 10 días	Relación con el procedimiento
Dolor en área de extracción	1,2,3,4,5,6,7		X	Relacionada
Dolor en región lumbar	1,2,3,4,5,6,7	X		Relacionada
Irritación cutánea	1,3,6	X		Posible relación
Infección	6 (sup)	X		Relacionada
Fiebre	4	X		Ninguna relación
Trastorno sensitivo	2,5,7	X		Relacionada
Aumento de presión arterial	5	X		Poco relacionada
Hiperglicemia	2	X		Ninguna relación

Fuente: Historias clínicas

La evaluación de la mejoría clínica de los pacientes se realizó a través del índice de discapacidad de Oswestry que constituye una herramienta muy empleada por cirujanos ortopédicos y neurocirujanos en la evaluación de resultados de la cirugía de columna vertebral. La tabla 4 muestra la variación obtenida en dicho índice para cada paciente, donde antes de realizarse el proceder la mayoría de ellos se encontraba en porcentajes superiores al 41, lo cual clasifica como discapacidad severa, solo uno reflejó 38 % de discapacidad correspondiente a la clasificación moderada y otro 61 % correspondiente a clasificación de invalidez; en el posinjerto tres pacientes se ubicaron en valores porcentajes menores a 20 lo que los clasifiqué en el nivel mínimo de discapacidad y los cuatro restantes refirieron valores que los ubicaron en clasificación de discapacidad moderada entre 21 y 40 %.

Dicha tabla 4 también muestra lo relativo a la posible variación en la clasificación imaginológica de la degeneración discal según los criterios empleados de Pfirrmann, es apreciable que en la mayoría de nuestros casos no se produjo

variación en el nivel asignado según los hallazgos, solo los pacientes cuatro y cinco según el criterio subjetivo del autor mejoraron un grado en dicha clasificación por imágenes.

Tabla 4. Cambio en la evaluación por ODI y la imaginología

No Caso	ODI pre	ODI pos	IRM pre (Pfirrmann)	IRM pos (Pfirrmann)
1	59%	21%	Grado III	Grado III
2	38%	19%	Grado II	Grado II
3	48%	26%	Grado III	Grado III
4	42%	14%	Grado III	Grado II
5	61%	29%	Grado III	Grado II
6	50%	13%	Grado III	Grado III
7	46%	28%	Grado II	Grado II

Fuente: Historias clínicas

Discusión

Las afecciones degenerativas son procesos continuos y progresivos en el tiempo, es conocido que la degeneración del disco intervertebral comienza tan temprano como en la primera década de la vida con el cambio del tipo celular predominante, de células notocordales a células semejantes a los condrocitos, lo cual produce inevitablemente un cambio en la matriz intercelular. ⁽²⁵⁻²⁸⁾ Esta progresión en el tiempo explica el predominio en nuestros pacientes de edades comprendidas entre los 30 y los 45 años de edad, pues nos planteamos seleccionar discos intervertebrales degenerados con reflejo en la imaginología en grados no avanzados de la clasificación empleada de Pfirrmann (II y III) lo que guarda correspondencia con dichas edades.

Semejante relación explica también los tiempos de padecer de sintomatología referidos por los pacientes, entre 12 y 30 meses, lo que debe corresponderse con los periodos iniciales de cambios en las imágenes de resonancia de la degeneración discal. No hemos encontrado en la escasa bibliografía sobre el tema

existente ninguna mención relativa a posible relación del sexo y la raza con el grado de degeneración de los discos intervertebrales.

El segmento vertebral lumbar es el de mayor movilidad en el organismo, dentro de este segmento, los espacios intervertebrales más móviles son los inferiores, comenzando por L5-S1, seguido por L4-L5 y L3-L4. Es conocido que el proceso de envejecimiento y degeneración vertebral depende de factores genéticos, nutricionales y de los esfuerzos mecánicos a que es sometido cada espacio y disco intervertebral en el transcurso de la vida. ^(29, 30)

Es lógico lo encontrado en nuestros pacientes donde en cuatro el disco con imágenes de cambios degenerativos se correspondió con el espacio L5-S1, el de mayor movilidad y sometido a mayores requerimientos mecánicos, seguido por L4-L5 con dos casos y L3-L4 en el restante paciente. Es igualmente conocido que el disco L5-S1 generalmente posee mayor superficie lo que explica que el volumen inyectado sea mayor que en los otros discos. Este volumen inyectado fue mayor que el reportado por Scott en su serie de 10 pacientes quien en todos los casos administro un ml. ⁽²²⁾

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la seguridad y tolerancia del trasplante de células madres de origen medular al disco intervertebral afectado por enfermedad degenerativa ubicado en los grados II y III de la clasificación por imágenes de resonancia descrita por Pfirrmann y colateralmente obtener evidencias preliminares de algún efecto beneficioso clínico o imaginológico de dicho proceder.

Los resultados muestran que con el método descrito en este trabajo se pueden obtener suspensiones de células mononucleares e implantar las mismas satisfactoriamente en los discos intervertebrales degenerados sin que ocurran complicaciones mayores ni en el transoperatorio ni en el posoperatorio con seguimiento de un año. Los eventos adversos registrados fueron escasos, de moderada a mínima intensidad y nunca pusieron en riesgo la vida de los pacientes

en esta serie de casos. Estos resultados son comparables a los obtenidos por otros autores en este tipo de trasplante celular en otras localizaciones de la anatomía humana en nuestro país y el mundo. ^(5, 6, 12, 13)

De los efectos adversos registrados, todos menores, el dolor en el área de extracción y de aplicación del trasplante celular guarda lógica **relación** con el procedimiento, así como la infección superficial reportada en un paciente y los trastornos sensitivos temporales relacionados con el trayecto del catéter en la región intrarraquídea en otros tres casos.

La irritación cutánea se interpretó relacionada con la solución antiséptica empleada por lo que fue catalogada como de **posible relación**, y el aumento de la presión sanguínea de **escasa relación** pues consideramos su origen en características individuales del paciente. Los otros dos eventos adversos se consideraron sin **ninguna relación** pues no existió otro síntoma clínico que explicara la febrícula momentánea de un paciente y lo mismo ocurrió con la hiperglicemia de otro caso.

La evaluación clínica a través del ODI mostro franca mejoría en todos los pacientes de este estudio con un notable cambio en dicha clasificación hacia discapacidad moderada en cuatro casos y discapacidad mínima en los restantes tres. Esto contrasta grandemente con lo obtenido por Scott quien refirió no encontrar mejoría clínica en ninguno de sus diez pacientes ⁽²²⁾. Hohaus y Meisel en sus trabajos con células madres obtenidas de tejido adiposo reflejaron que los pacientes que recibieron trasplantes celulares autólogo después de discectomía referían menos dolor lumbar a los dos años que aquellos que no recibieron células después de la discectomía. ^(31, 32)

Nuestro criterio se fundamenta en que la terapia celular en la enfermedad degenerativa discal tiene su mayor indicación en los estadios iniciales, cuando la disminución y cambio en el tipo celular aun no es muy marcado y existe matriz extracelular adecuada que estimule la diferenciación de las células madres

injertadas en células discales. Scott realizo el trasplante celular tres meses después de efectuar discectomía endoscópica, lo que se contrapone con nuestro criterio mientras que Hohaus y Meisel realizaron el trasplante en el mismo acto quirúrgico. (22, 31, 32)

No se encontró en la bibliografía revisada ningún trabajo que refiriera mejoría en la imaginología después del injerto de células madres, nosotros establecimos la comparación entre lo hallado en las imágenes de resonancia antes y un año después del proceder y apreciamos que solo dos pacientes mostraron modificación según la clasificación de Pfirrmann empleada pasando de grados III a grados II ambos en discos localizados entre L5-S1 lo cual puede estar no exento de factor subjetivo pues la evaluación la realizo el autor.

La total ausencia de complicaciones severas en nuestro estudio demuestra que las células son bien toleradas por los pacientes y que el procedimiento quirúrgico y los cuidados perioperatorios fueron seguros. Esto es una importante condición para desarrollar futuros estudios utilizando células madres de origen en la medula ósea como tratamiento de la enfermedad degenerativa discal vertebral.

Sin embargo el pequeño número de pacientes así como la metodología en su selección no nos permiten llegar a evidencias conclusivas acerca del efecto beneficioso del trasplante de células madres autólogas al disco intervertebral.

Nuestros resultados muestran que las células madres de origen en la medula ósea pueden ser trasplantadas al disco intervertebral de manera segura en aquellos pacientes que sufren enfermedad degenerativa lo que abre un camino a futuros trabajos en esta dirección.

Bibliografía

- 1- Deyo RA, Mirza SK, Martin BI, Kreuter W, Goodman DC, Jarvik JG. Trends, major medical complications, and charges associated with

- surgery for lumbar spinal stenosis in older adults. *JAMA*. 2010; 303:1259–65.
- 2- Freemont AJ. The cellular pathobiology of the degenerate intervertebral disc and discogenic back pain. *Rheumatology*. 2009; 48:5–10.
 - 3- Ganey TM, Meisel HJ. A potential role for cell-based therapeutics in the treatment of intervertebral disc herniation. *Eur Spine J*. 2002; 11(Suppl.2):S206–14.
 - 4- Hsieh AH, Twomey JD. Cellular mechanobiology of the intervertebral disc: New directions and approaches. *J Biomechanics*. 2010; 43: 137-45.
 - 5- Hohaus C, Ganey TM, Minkus Y, Meisel HJ. Cell transplantation in lumbar spine disc degeneration disease. *Eur Spine J*. 2008; 17(Suppl4):S492–503.
 - 6- Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Gordon PL, Neel M, Sussman M, Orchard P, Marx JC, Pyeritz RE, Brenner MK. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med*. 1999; 5:309-13.
 - 7- Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, Homma S, Edwards NM, Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med*. 2001; 7:430-6.
 - 8- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001; 410:701-5.
 - 9- Kelly S, Bliss TM, Shah AK, Sun GH, Ma M, Foo WC, Masel J, Yenari MA, Weissman IL, Uchida N, Palmer T, Steinberg GK. Transplanted human fetal neural stem cells survive, migrate, and differentiate in ischemic rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101:11839-44.
 - 10- Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKercher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science*. 2000; 290:1779-82.
 - 11- Shichinohe H, Kuroda S, Yano S, Ohnishi T, Tamagami H, Hida K, Iwasaki Y. Improved expression of gamma-aminobutyric acid receptor in mice with cerebral infarct and transplanted bone marrow

- stromal cells: an autoradiographic and histologic analysis. *J Nucl Med.* 2006; 47:486-91.
- 12-Suarez Monteagudo C, Hernández Ramírez P, Álvarez González L, García Maeso I, Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients. An open study. *Rest Neur Neuroscience.* 2009; 27:151-61.
- 13-Hernández Ramírez P, Cortina L, Artaza H, Pol N, Lam RM, Dorticos E, Macías Castro C, Hernández C, Blanco A, Martínez A, Díaz F. Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation in patients with severe lower limb ischaemia: a comparison of using blood cell separator and Ficoll density gradient centrifugation. *Atherosclerosis.* 2007; 194:e52-6.
- 14-Porada CD, Zanjani ED, Meida Porad G. Adult mesenchymal stem cells: a pluripotent population with multiple applications. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2006; 1: 365-9.
- 15-Feron F. Current cell therapy strategies for repairing the central nervous system. *Rev Neurol.* 2007; 163(SpecNo1):3S23-30.
- 16-Hess DC, Borlongan CV. Stem cells and neurological diseases. *Cell Prolif.* 2008; 41:94-114.
- 17-Rosser AE, Zietlow R, Dunnett SB. Stem cell transplantation for neurodegenerative diseases. *Curr Opin Neurol.* 2007; 20:688-92.
- 18-Ganey T, Hutton W, Moseley T, Hedrick M, Meisel H-J. Intervertebral Disc Repair Using Adipose Tissue-Derived Stem and Regenerative Cells: Experiments in a Canine Model. *Spine.* 2009; 34(21):2297-2304.
- 19-Guehring T, Nerlich A, Kroeber M, Richter W, Omlor GW. Sensitivity of notochordal disc cells to mechanical loading: an experimental animal study. *Eur Spine J.* 2010; 19:113–21.
- 20-Hee HT, Lim T, Goh JCH, Wong HK. Effects of implantation of bone marrow mesenchymal stem cells, disc distraction and combined therapy on reversing degeneration of the intervertebral disc. *JBJSurg B.* 2010; 92(5):726-36.
- 21-Halloran DO, Grad S, Stoddart M, Dockery P, Alini M, Pandit AS. An injectable cross-linked scaffold for nucleus pulposus regeneration. *Biomaterials.* 2008; 29:438–47.
- 22-Scott MW, Mork AR. Intradiscal Injection of Hematopoietic Stem Cells in an attempt to rejuvenate the Intervertebral Discs. *Stem Cells and Development.* 2006; 15:136–7.

- 23-Pfirrmann CW, Metzdorf A, Zanetti M. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration. *Spine*. 2001; 26:1873–8.
- 24-Fairbank JC, Pynsent PB. The Oswestry Disability Index. *Spine*. 2000, 25:2940-52.
- 25-Trout JJ, Buckwalter JA, Moore KC, Landas SK. Ultrastructure of the human intervertebral disc. I. Changes in notochordal cells with age. *Tissue Cell*. 2009; 14:359.
- 26-Trout J, Buckwalter J, Moore K. Ultrastructure of the human intervertebral disc II. Cells of the nucleus pulposus. *Anat Rec*. 2009; 204:307.
- 27-Kim KW, Kim YS, Ha KY, Woo YK, Park JB, Park WS, An HS. An autocrine or paracrine Fas-mediated counterattack: a potential mechanism for apoptosis of notochordal cells in intact rat nucleus pulposus. *Spine*. 2005; 30:1247-51.
- 28-Capello R, Bird JL, Pfeiffer D, Bayliss MT, Dudhia J. Notochordal cell produce and assemble extracellular matrix in a distinct manner, which may be responsible for the maintenance of a healthy nucleus pulposus. *Spine*. 2006; 31:873-82.
- 29-Tabares Neyra H, Díaz Quesada J. Trasplante autólogo de células madres medulares al disco intervertebral. Reporte Preliminar. Disponible en CD: XX Congreso Internacional Cubano de Ortopedia y Traumatología 2009 (memorias); ISBN 978-959-7158-88-2.
- 30-Garfin S, Herkowitz H, Mirkovic S. Spinal Stenosis, An Instructional Course Lecture, American Academy of Orthopaedic Surgeons. 2000; *Volume 49*.
- 31-Hohaus C, Ganey TM, Minkus Y. Cell transplantation in lumbar spine disc degeneration disease. *Eur Spine J*. 2008; 17(Suppl 4):S492–S503.
- 32-Meisel HJ, Ganey TM, Hutton WC, Libera J, Minkus Y, Alasevic O. Clinical experience in cell-based therapeutics: intervention and outcome. *Eur Spine J*. 2006; 15(Suppl. 3):S397–S405.