

Efecto de la adición de células madre mesenquimales adultas obtenidas de grasa a una sutura meniscal en zona blanca-blanca. Estudio experimental en conejos*

M.Á. Ruiz-Ibán¹, J. Díaz-Heredia¹, I. García Gómez², F. González-Lizán¹, C. Correa³, F. Berdugo Bendaham¹

¹ Departamento de Traumatología

² Departamento de Investigación

³ Cirugía Experimental

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Correspondencia:

Miguel Ángel Ruiz Ibán

Departamento de Traumatología

Hospital Universitario Ramón y Cajal

Ctra. Colmenar, km 9,100 (28034 Madrid)

Correo electrónico: drmri@hotmail.com

El uso de células madre mesenquimales obtenidas de grasa (CMM) puede aumentar las posibilidades de éxito de la sutura meniscal. Se colocaron 10⁵ CMM en una lesión longitudinal de 5 mm en la zona avascular del menisco interno de 12 conejos y se suturó con un punto simple. Como controles se tomaron las rodillas contralaterales sin CMM. Los animales fueron sacrificados a las 12 semanas y entonces se examinaron los meniscos. En los 12 meniscos con CMM aparecieron cicatrizaciones parciales en tres, y completas en tres. En los 12 controles hubo cicatrización parcial en uno y ninguna completa. El análisis microscópico identificó fibrocartilago meniscal en buen estado en las zonas cicatriciales.

Palabras clave: Menisco interno. Sutura meniscal. Célula madre mesenquimal. Grasa. Conejo.

Effect of the addition of adult mesenchymal stem cells obtained from fat to a meniscal suture in the white-white zone. An experimental study in rabbits. The use of mesenchymal stem cells derived from fat (MSC) can increase the success rate of meniscal suture. 10⁵ MSC were placed in a longitudinal lesion at the avascular zone of the medial menisci of 12 rabbits that was sutured with a single stitch. The contralateral knee was used as control without MSC. The animals were sacrificed after 12 weeks and the menisci were examined. In the 12 menisci treated with MSC, partial healing was observed in three and complete healing in another three. In the 12 controls there was partial healing in one and no complete healings. Microscopical analysis identified well formed meniscal fibrocartilage in the healed zones.

Key words: Medial menisci. Meniscal suture. Mesenchymal stem cell. Fat. Rabbit.

* Estudio becado por la Asociación Española de Artroscopia.

INTRODUCCIÓN

El menisco constituye una parte esencial de la rodilla ya que es vital para su correcta función biomecánica. Tiene importancia reconocida en la transmisión de cargas, la conservación del cartílago articular y en la estabilidad de la rodilla. Las lesiones meniscales son una causa común de disfunción de rodilla, sobre todo en pacientes jóvenes y activos, y el tratamiento artroscópico de estas lesiones se ha convertido en uno de los procedimientos quirúrgicos más frecuentes. Aunque la resección meniscal es un procedimiento sencillo y con buenos resultados a corto plazo, la resección de parte o todo el menisco tiene efectos secundarios indeseables a medio y largo plazo con aparición de cambios degenerativos en la articulación⁽¹⁻³⁾.

La sutura meniscal se presenta como una opción a tener siempre en cuenta cuando el cirujano se enfrenta a una lesión meniscal. Sin embargo, el éxito de la sutura viene condicionado, además de por otros factores, por circunstancias biológicas locales del menisco, de manera que las lesiones que se producen en el área central del menisco, que es avascular, tienen un pronóstico mucho peor si se suturan⁽⁴⁾.

Las células madre se presentan como una alternativa de futuro en la regeneración celular y tisular. Las células madre mesenquimales adultas (CMM) se pueden obtener fácilmente de la grasa o la médula ósea y se han demostrado eficaces en la regeneración de defectos cutáneos y óseos en humanos⁽⁵⁻⁷⁾, así como de otros muchos tejidos en animales^(8,9).

El objetivo de este estudio es determinar si la adición de CMM en la zona de una lesión meniscal en la zona avascular del cuerno anterior del menisco de conejo en el momento de la sutura tiene algún efecto en la curación de esa lesión.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en 12 conejos de Nueva Zelanda hembra con un peso de 3 a 3,5 kg. Las células madre mesenquimales se obtuvieron del tejido adiposo de la región inguinal de tres conejos de la misma raza y estirpe que los utilizados en el estudio. Las muestras de tejido adiposo se dividen en pequeños fragmentos, y se digieren con colagenasa de tipo I (Gibco BRL, Paisley, Escocia, UK) durante

30 minutos a 37°. Los adipocitos maduros son descartados mediante centrifugación (300 g, 5 minutos). Las células mononucleares de baja densidad son aisladas mediante la centrifugación (670 g, 30 minutos) en gradiente de densidad con Ficoll-Paque (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden), y cultivadas en un incubador a 37° en aire húmedo con 5% CO₂ con medio Dulbecco modificado Eagle (Gibco BRL, Paisley, Scotland, UK), el cual contiene 10% suero fetal bovino (Gibco BRL, Paisley, Scotland, UK), y 0,1% antibiótico-antimicótico (Gibco BRL, Paisley, Scotland, UK). El medio es cambiado para eliminar las células no adherentes a las 24 h tras el sembrado, y cada cuatro días. Para los subcultivos las células se despegan con 0,05% de tripsina (Sigma, Saint Louis, Missouri, USA) en solución Hanks Balanced Solution (HBBS) (Sigma, Saint Louis, Missouri, USA) cuando alcanzan el 80-90% de confluencia. Las células utilizadas correspondieron siempre al tercer subcultivo. En el último cultivo las CMM son marcadas con bromodeoxiuridina (BrdU) (Sigma, Saint Louis, Missouri, USA), un análogo de la timidina que se incorpora al ADN.

Los animales se anestesian con Propofol (Dipríván®) al 1% con una dosis de inducción de 30 mg por vía intravenosa y dosis de mantenimiento de 1,5-3 mg/minuto. Se administra también profilaxis antibiótica y analgesia para el posoperatorio. En cada animal se usó de forma aleatoria una rodilla como control y otra para el tratamiento. Se preparan ambas rodillas mediante afeitado y lavado con solución antiséptica. Con el animal en decúbito supino se inocula 1 ml de bupivacaína al 1% subcutánea en la vía de abordaje. Se realiza una incisión en línea media de la rodilla desde polo superior de rótula hasta inserción tibial del tendón rotuliano. Se identifica la cápsula articular y se realiza un artrotomía a nivel pararrotuliano medial desde 5 mm proximal a polo superior de rótula hasta la meseta tibial medial; a continuación, se subluxa la rótula. De esta manera, se obtiene una visión adecuada del cuerno anterior del menisco interno, y controlando su posición se amplía la artrotomía transversalmente hacia medial sobre el cóndilo femoral hasta el ligamento colateral medial que se conserva. Con una leve tracción anterior se expone el cuerno anterior sin llegar a luxar el menisco. En la **Figura 1** se aprecia el cóndilo femoral medial (C), el ligamento colateral medial (l), la grasa de Hoffa (H) y el cuerno

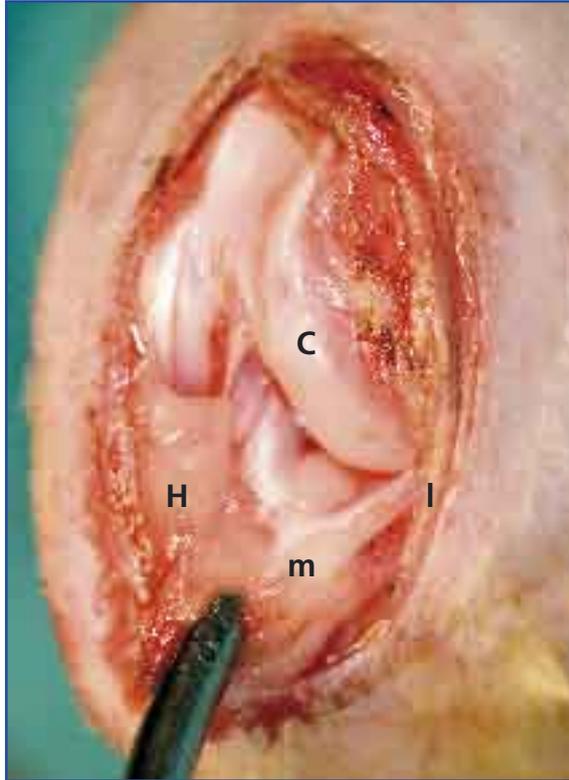


Figura 1. Vía de abordaje y exposición del menisco interno del conejo.

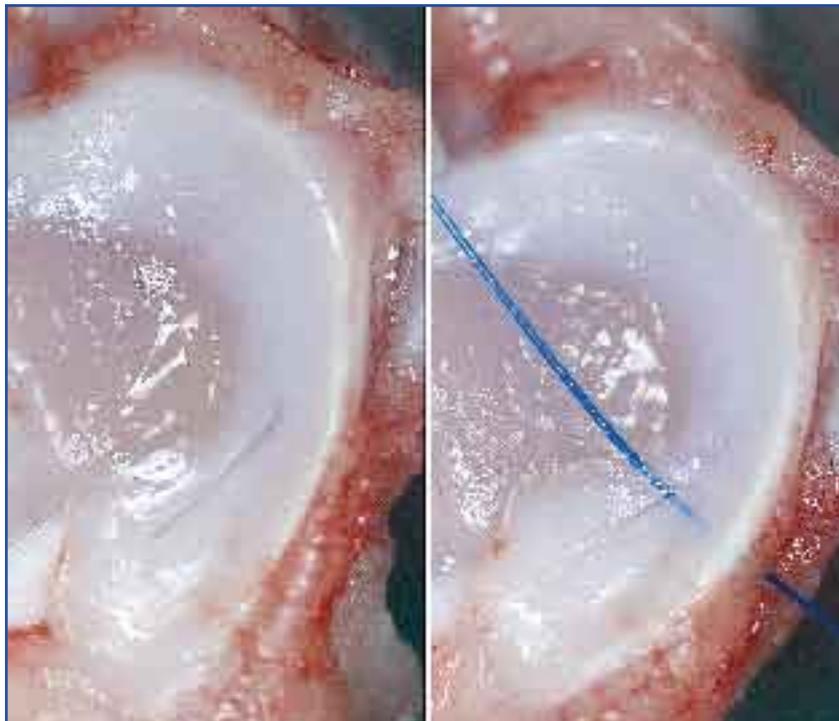


Figura 2. Lesión meniscal y sutura de la lesión.

anterior del menisco medial (*m*) traccionado con una pinza para una buena exposición. Con un bisturí microquirúrgico se realiza una incisión de 5 mm de largo, paralela al borde libre del menisco y situada en la unión del cuerpo con el cuerno anterior y en la zona avascular entre el tercio medio y tercio central del menisco. En la **Figura 2** se aprecia esta incisión (*A*), que se sutura con un solo punto simple de Prolene 6/0 colocado en el centro de la lesión (*B*), se da desde el muro meniscal hasta 1,5 mm del borde interno de la lesión y se anuda lateralmente. En la rodilla control se instila en la lesión 50 μ l de solución de Matrigel® en fase gel y a continuación se anuda el punto con 5 nudos simples alternos. En el grupo con CMM se instila en la lesión 50 μ l de la solución de Matrigel® en fase gel con 10^5 CMM, y a continuación se anuda el punto. Se reduce la rótula y la artrotomía se cierra con puntos sueltos de Vicryl 4/0. La piel se cierra con sutura intradérmica de Vicryl rapid 5/0. Se aplica solución antiséptica yodada en la herida.

Los animales se mantuvieron en sus jaulas individuales sin restricción para el movimiento de las extremidades durante 12 semanas. Fueron sacrificados mediante una inyección intravenosa de 60 mg de Propofol. Se realizó una artrotomía transversa subpatelar y se extrajeron ambos meniscos internos completos con 3 a 5 mm de tejido parameniscal.

Los meniscos fueron analizados con lupa de 10 aumentos por ambas caras. Se anotó la presencia y estado de la sutura meniscal así como el aspecto de la lesión, incluyendo cada caso en una de las siguientes categorías:

- **Curación completa:** no se aprecia la presencia de lesión en la zona o se aprecia continuidad del tejido meniscal a lo largo de toda la lesión y en profundidad, pero se puede identificar la zona de lesión.
- **Curación parcial:** se aprecia continuidad del tejido meniscal a lo largo de toda la lesión, pero hay

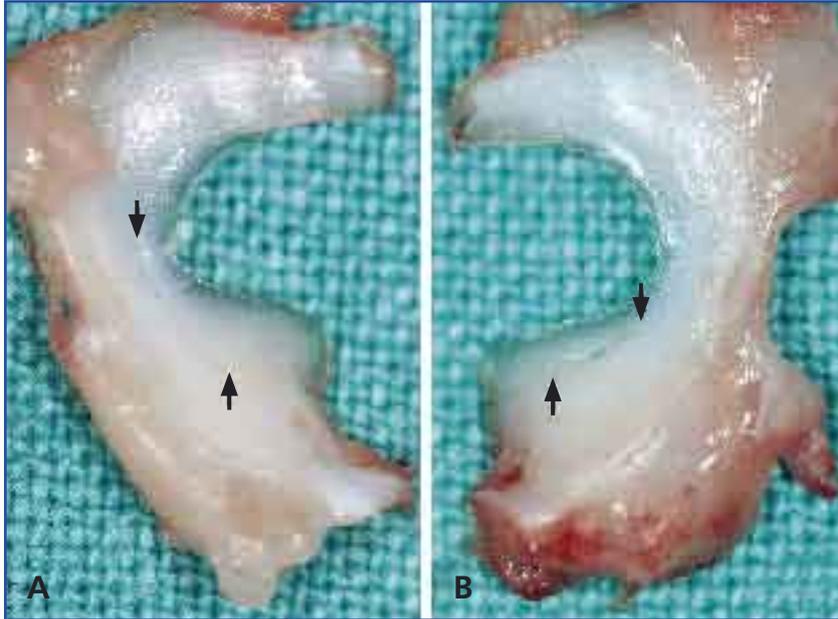


Figura 3. Análisis macroscópico de los resultados en los meniscos de uno de los animales (el inicio y final de la lesión se marcan con sendas flechas). En el menisco A (tratado con CMM) se aprecia una curación casi completa de la lesión, mientras que en el B (del grupo de control) se observa que la lesión no está reparada claramente en su parte más anterior (marcada entre las flechas). Se han retirado las suturas.

zonas donde la reparación no se extiende a todo el grosor de la lesión

- **No curación:** se aprecia discontinuidad del tejido meniscal en alguna zona con comunicación de la cara tibial con la femoral.

Tras el análisis macroscópico se fijaron los meniscos en formaldehído (solución A DiaPath®) durante 15 días, y se descalcificaron con ácido hidroclicórico y EDTA (solución B DiaPath®) durante 3 semanas. Se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 5-10 μm en el plano coronal del menisco perpendicularmente a la lesión. Se realizaron tinciones con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson, y una inmunodetección con anticuerpos anti-BrdU mediante técnicas inmunohistoquímicas para la localización de las células implantadas en los cortes histológicos. Se analizaron las muestras bajo el microscopio a 20 \times y 100 \times .

RESULTADOS

El análisis con lente de aumento a 10 \times reveló, en el grupo de meniscos tratados con CMM, curaciones completas en 3 meniscos (**Figura 3**), curaciones parciales en 3 y no curaciones en 6.

En el grupo de control no se apreciaron curaciones completas en ningún menisco, se apreció una curación parcial, y no hubo reparación ninguna en 11.

El estudio de la zona de la lesión en los meniscos con algún grado de curación con microscopía óptica con tinciones de hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson permitió apreciar que las características histológicas de la zona cicatricial eran distintas en el grupo de control y en el grupo tratado con CMM, observándose en este segundo grupo una celularidad y arquitectura fibrilar muy similar a la del menisco sano, mientras que en el grupo de control se apreciaban zonas de cicatriz fibrosa.

En la **Figura 4**, el estudio a 20 aumentos con hematoxilina-eosina de un corte coronal de uno de los meniscos tratados con CMM (A) permite apreciar que el área donde se localizaba la lesión (marcada entre las cuatro flechas grandes) está ocupada por tejido meniscal aparentemente sano con una celularidad casi normal, y el estudio con hematoxilina-eosina de un corte coronal de uno de los meniscos control (B) permite apreciar la discontinuidad del área de la lesión (marcada con dos flechas grandes) estando los bordes ocupados por tejido fibroso cicatricial.

La tinción de las muestras con anticuerpos anti-BrdU permitió apreciar, en el grupo tratado con CMM, células condrofibroblásticas con reacción nuclear positiva para BrdU. En la **Figura 4**, el estudio a 40 aumentos de la muestra A con inmunohistoquímica (C) permite observar abundante captación en distintas células (marcadas con flechas).

DISCUSIÓN

La necesidad de conservar la mayor parte posible de tejido meniscal funcional en la cirugía

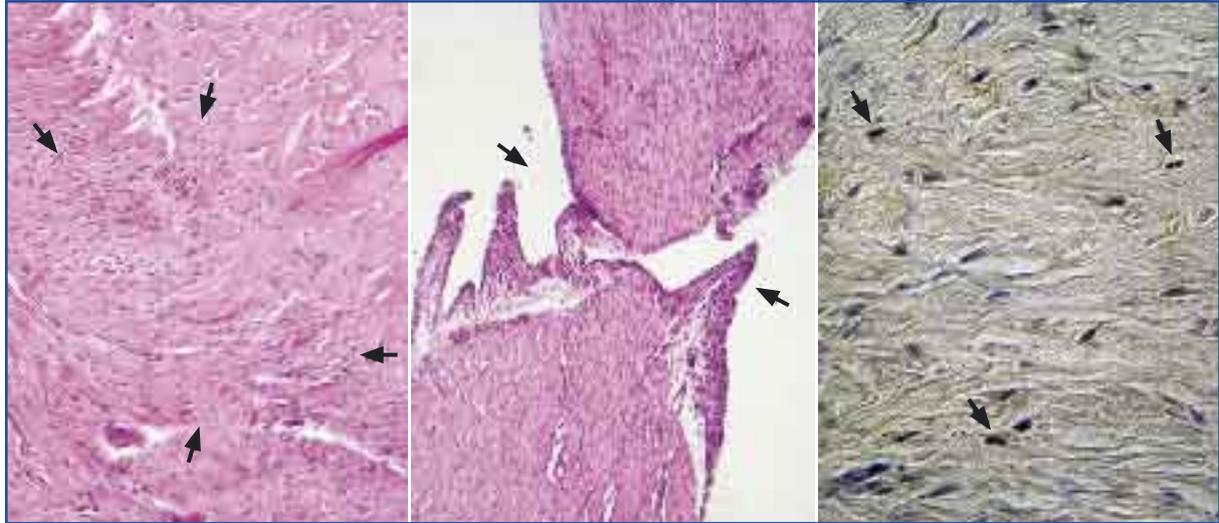


Figura 4. Análisis microscópico de las muestras.

de las lesiones meniscales es una regla esencial de esta cirugía, sobre todo cuando se trata de pacientes jóvenes. La resección meniscal tiene efectos deletéreos evidentes en la función a largo plazo de la rodilla; esto es cierto cuando esta resección es extensa⁽¹⁰⁻¹³⁾ y cuando es más limitada^(1-3,14). Pese a esto, las técnicas actuales de sutura meniscal se encuentran con limitaciones relacionadas con las características mecánicas y bioquímicas del menisco; de manera que las lesiones que se producen en la zona avascular del menisco presentan tasas de curación con las técnicas actuales de en torno al 20-30%⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. Pese a que existen maneras de mejorar el entorno bioquímico de la sutura como las perforaciones en el menisco hasta la zona vascular^(19,20), el uso de colgajos sinoviales⁽²¹⁻²³⁾, las perforaciones óseas⁽²⁴⁾ o el aporte de coágulos de fibrina⁽²⁵⁻²⁷⁾ o factores de crecimiento⁽²⁸⁾, éstas se muestran insuficientes. Existe, pues, la necesidad de diseñar estrategias biológicas que mejoren las expectativas de las suturas meniscales en zona avascular.

Se eligió un modelo experimental en conejo ya que, pese a que ningún modelo animal es idéntico al menisco humano, no existen diferencias significativas en la estructura y las propiedades del menisco humano y el del conejo⁽²⁹⁾. Además, distintos autores han demostrado la validez de modelos experimentales de sutura meniscal en conejos⁽³⁰⁻³³⁾.

El campo de la investigación con células madre abarca un grupo muy grande de estirpes ce-

lulares distintas. Aunque la investigación con células madre de origen embrionario o fetal es prometedora por la impresionante capacidad de diferenciación de éstas, se ve condicionada por dificultades técnicas en su obtención y dificultades éticas en su uso. El uso de células madre adultas no lleva asociado estos dilemas éticos y su obtención es fácil, ya que se encuentran presentes en casi todos los tejidos^(7,8). En particular las CMM son fáciles de extraer tanto de la médula ósea como de la grasa; esta última opción se demuestra muy adecuada ya que, en general, la grasa es muy accesible, lo que permite la fácil obtención de una cantidad suficiente de células —que presentan, además, buena viabilidad—^(9,34).

Las CMM obtenidas de grasa han demostrado ser al menos tan versátiles y útiles como las obtenidas de médula ósea⁽⁹⁾ y se han utilizado ampliamente en terapéutica de regeneración tisular⁽³⁵⁻³⁷⁾. Y lo que es más importante: algunos estudios se han realizado en humanos, de manera que las posibilidades de trasladar a la práctica clínica cualquier hallazgo experimental se ven muy favorecidas por la existencia de antecedentes y protocolos para uso humano. Por ejemplo, García Olmo *et al.*⁽⁵⁾ han demostrado la utilidad de las CMM de origen adiposo en la curación de fístulas en la enfermedad de Crohn. Las CMM se han usado también con éxito en humanos en la reparación de hueso⁽⁶⁾ y tejido cardíaco^(38,39).

La lesión meniscal que se trató en este estudio está diseñada para minimizar la capacidad

de regeneración intrínseca del tejido meniscal. El menisco interno tiene menor capacidad de regeneración⁽⁴⁰⁾ y el cuerno anterior es menos susceptible a la curación⁽⁴⁰⁾. Además, en la zona avascular confluyen una serie de circunstancias bioquímicas (menor respuesta intrínseca a las citoquinas, menor capacidad mitótica de las células y presencia de factores antiangiogénicos)^(4,41,42) que, asociadas a la ausencia de aporte vascular, son responsables de la escasa tasa de éxitos de la sutura a ese nivel. De hecho, pese a presentarse algunos factores que favorecen la curación de lesiones como la producida aquí (lesión longitudinal de bordes limpios, reparación inmediata y adición de Matrigel®, que tiene cierto efecto de pegamento biológico), en el presente estudio sólo se apreciaron curaciones parciales en el 8,3% de los controles.

Las CMM fueron obtenidas de animales distintos a los usados en el estudio para minimizar la agresión quirúrgica sobre éstos. Esta circunstancia no ocasionó problemas de respuesta inmunitaria, ya que los animales empleados tienen un *pool* genético muy similar y a que las CMM son muy poco inmunogénicas al expresar pocos marcadores de superficie⁽⁸⁾. Una vez cultivadas, las CMM fueron suspendidas en una solución de Matrigel® en fase sol que al calentarse a 37° se gelifica, un estado que debido a su consistencia y adhesividad es ideal para administrarlo localmente en la zona de la lesión. Aunque el propio Matrigel® tiene pequeñas cantidades de factores de crecimiento, la sustancia se usó en dosis idénticas en las lesiones del grupo de control.

Los resultados obtenidos aquí con tasas de curación completa del 25% y parcial del 25% se comparan favorablemente con los obtenidos por otros autores. Jitsuiki *et al.*⁽²²⁾, en un estudio experimental con conejos en los que intentó potenciar el éxito de una sutura meniscal interponiendo tejido sinovial, obtuvo resultados malos con ausencia de consolidaciones totales pero un alto índice de consolidaciones parciales. Sonoda *et al.*⁽⁴³⁾ utilizaron ácido hialurónico como potenciador de la sutura y no obtuvieron curaciones completas y sólo un 25% de con-

solidaciones parciales. En un estudio en cabras en que se suplementaba la sutura con CMM de médula ósea y coágulo de fibrina, Port *et. al.*⁽⁴⁴⁾ obtuvieron resultados similares a los obtenidos aquí, al lograr algún grado de curación en el 50% de los casos.

La presencia de células en el menisco curado con marcación nuclear positiva para BrdU es un indicador fiable de que las CMM proliferaron localmente y se diferenciaron a tipos celulares compatibles con el tejido receptor y que se imbricaron con éxito en éste.

El mecanismo de acción por el que las CMM favorecen la curación del menisco no puede desprenderse directamente de este estudio, pero, en base a lo observado en otros, puede aventurarse un mecanismo de acción doble: por una parte, las CMM implantadas en un entorno de lesión celular proliferan y se diferencian a los tipos celulares locales, en este caso fibrocondrocitos, en el contexto del proceso de cicatrización local participando de forma directa en la reparación de la lesión. Por otra parte, las CMM secretan distintos factores de crecimiento que tiene acción paracrina, estimulando la proliferación celular, la vascularización y acelerando el proceso de cicatrización normal. En este experimento hay un porcentaje de lesiones sobre las que las CMM no parecen tener efecto. Esto puede atribuirse tanto a una falta de adhesión local precoz de las CMM, que quedan suspendidas en el líquido articular y quedan inefectivas, como a la posible resistencia del tejido meniscal a la actuación de las CMM.

CONCLUSIONES

El uso de CMM derivadas de grasa tiene un efecto positivo en la curación de lesiones pequeñas en el cuerno anterior del menisco interno del conejo. La tasa de éxito de la sutura primaria fue mayor cuando se añadieron 10⁵ CMM; las características del tejido cicatricial fueron más parecidas al menisco normal y las CMM se diferenciaron a fibrocondrocitos localmente.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Rangger C, Klestil T, Gloetzer W, Kemmler G, Benedetto, KP. Osteoarthritis after arthroscopic partial meniscectomy. *Am J Sports Med* 1995; 23 (2): 240-4.
- 2 Rockborn P, Messner K. Long term results of meniscus repair and meniscectomy: a 13 year functional and radiographic follow up study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2000; 8: 2-10.
- 3 Hoser C, Fink C, Brown C, Reichkender M. Long term results of arthroscopic partial lateral meniscectomy in knees without associated damage. *J Bone Joint Surg (B)* 2001; 83 (4): 513-6.
- 4 Kobayashi K. Regional differences in the healing potential of the meniscus. *Knee* 2004; 11: 271-8.
- 5 García-Olmo D, García-Arranz D, Herreros D, Pascual I, Peiró C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005; 48 (7): 1416-23.
- 6 Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P, et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg* 2004; 32 (6): 370-3.
- 7 Lee FH, Hui JHP. The potential of stem cells in orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg (B)* 2006; 88 (7): 841-51.
- 8 Caplan A. Stem and progenitor cells. Mesenchymal stem cells and gene therapy. *Clin Orthop* 2000; 379S: 67-70.
- 9 Strem BM, Hicok KC, Zhu M, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 2005; 54 (3): 132-41.
- 10 Fairbank TJ. Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg (B)* 1948; 30 (4): 664-70.
- 11 McGinty JB, Geuss LF, Marvin RA. Partial or total meniscectomy. *J Bone Joint Surg (A)* 1977; 59: 763-6.
- 12 Cox JS, Cordell LD. The degenerative effects of medial meniscus tears in dogs' knees. *Clin Orthop* 1977; 125: 236-42.
- 13 Arnoczky SP, McDevitt CA. The meniscus: structure, repair, and replacement. En: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR (eds.). *Orthopaedic Basic Science* (2ª ed.). Park Ridge: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2000. p. 531-45.
- 14 Baratz ME, Fu FH, Mengato R. Meniscal tears: the effect of meniscectomy and of the repair on intraarticular contact areas and stress in the human knee. *Am J Sports Med* 1986; 14: 270-5.
- 15 Rubman MH, Noyes FR, Barber-Westin, SD. Arthroscopic repair of meniscal tears that extend into the avascular zone. *Am J Sports Med* 1998; 26 (1): 87-95.
- 16 Okuda K, Ochi M, Shu N, Uchio Y. Meniscal rasping for repair of meniscal tear in the avascular zone. *Arthroscopy* 1999; 15 (3): 281-6.
- 17 Noyes FR, Barber-Westin, SD. Arthroscopic repair of meniscus tears extending into the avascular zone with or without anterior cruciate ligament reconstruction in patients 40 years of age and older. *Arthroscopy* 2000; 16 (8): 822-9.
- 18 Papachristou G, Efsthopoulos N, Plessas S, Levidiotis C, et al. Isolated meniscal repair in the avascular area. *Acta Orthop Bel* 2003; 69 (4): 341-5.
- 19 Zhongnan Z, Kaiyuan T, Yinkan X, Wenming Z, et al. Treatment of longitudinal injuries in avascular area of meniscus in dogs by trephination. *Arthroscopy* 1988; 4 (3): 151-9.
- 20 Zhongnan Z, Arnold JA, Williams T, McCann B. Repairs by trephination and suturing of longitudinal injuries in the avascular area of the meniscus in goat. *Am J Sports Med* 1995; 23 (1): 35-41.
- 21 Cisa J, Basora J, Madarnas P, Ghibely A, Navarro-Quilis A. Meniscal repair by synovial flap transfer. Healing of the avascular zone in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1995; 66 (1): 38-40.
- 22 Jitsuike J, Ochi M, Ikuta Y. Meniscal repair enhanced by an interpositional free synovial autograft: an experimental study in rabbits. *Arthroscopy* 1994; 10 (6): 659-66.
- 23 Shirakura K, Nijima M, Kobuna Y, Kizuki S. Free synovium promotes meniscal healing: synovium, muscle and synthetic mesh compared in dogs. *Acta Orthop Scand* 1997; 68 (1): 51-4.
- 24 Freedman KB, Nho SJ, Cole BJ. Marrow stimulating technique to augment meniscus repair. *Arthroscopy* 2003; 19 (7): 794-8.
- 25 Arnoczky SP, Warren RF, Spivak JM. Meniscal repair using an exogenous fibrin clot. An experimental study in dogs. *J Bone Joint Surg (A)* 1988; 70: 1209-17.
- 26 Henning CE, Lynch MA, Yearout PT, et al. Arthroscopic meniscal repair using an exogenous fibrin clot. *Clin Orthop* 1990; 252: 64-72.
- 27 Ishimura M, Ohgushi H, Habata T. Arthroscopic meniscal repair using fibrin glue. Part I: Experimental study. *Arthroscopy* 1997; 13 (5): 551-7.
- 28 Hashimoto J, Kurosaka M, Yoshiya S, Hirohata K. Meniscal repair using fibrin sealant and endothelial cell growth factor. An experimental study in dogs. *Am J Sports Med* 1992; 20 (5): 537-41.
- 29 Sweigart MA, Zhu CF, Burt DM, et al. Intraspecies and interspecies

- comparison of the compressive properties of the medial meniscus. *Ann Biomed Eng* 2004; 32 (11): 1569-79.
- 30 Huang TL, Lin GT, O'Connor S, et al. Healing potential of experimental meniscal tears in the rabbit. *Clin Orthop* 1991; 267: 299-305.
- 31 Roeddecker K, Nagelschmidt M, Koebke J, Guensche K. Meniscal healing: a histological study in rabbits. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1993; 1: 28-33.
- 32 Suzuki Y, Takeuchi N, Sagehashi Y, Yamaguchi T, et al. H. Effects of hyaluronic acid on meniscal injury in rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg* 1998; 117: 303-6.
- 33 Guisasola, I, Vaquero, J, Forriol, F. Knee immobilization on meniscal healing after suture. *Clin Orthop* 2002; 395: 227-33.
- 34 Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7 (2): 211-28.
- 35 Barrilleaux B, Phinney DG, Prockop DJ, O'Connor KC. Review: Ex vivo engineering of living tissues with adult stem cells. *Tissue Eng* 2006; 12 (11): 3007-19.
- 36 Kimelman N, Pelled G, Helm GA, et al. Review: Gene- and stem cell-based therapeutics for bone regeneration and repair. *Tissue Eng* 2007; 13 (6): 1135-50.
- 37 Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007; 100 (9): 1249-60.
- 38 Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 108 (18): 2212-8.
- 39 Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355 (12): 1210-21.
- 40 Horibe S, Shino K, Nakata K, et al. Second-look arthroscopy after meniscal repair. *J Bone Joint Surg (B)* 1995; 77B (2): 245-9.
- 41 Becker, R, Pufe, T, Kulow, S, et al. Expression of vascular endothelial growth factor during healing of the meniscus in a rabbit model. *J Bone Joint Surg (B)* 2004; 86 (7): 1082-7.
- 42 Petersen W, Pufe T, Stärke C, et al. Locally applied angiogenic factors: a new therapeutic tool for meniscal repair. *Ann Anat* 2005; 187: 509-19.
- 43 Sonoda M, Harwood FL, Amiel ME, et al. The effects of hyaluronan on tissue healing after meniscus injury and repair in a rabbit model. *Am J Sports Med*. 2000; 28 (1): 90-7.
- 44 Port J, Jackson DW, Lee TQ, Simon TM. Meniscal repair supplemented with exogenous fibrin clot and autogenous cultured marrow cells in the goat model. *Am J Sports Med* 1996; 24 (4): 547-55.