

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“EL USO DE CÉLULAS MADRE DE LA MEDULA ÓSEA EN LA
TERAPÉUTICA DE LA TENDINITIS EN EQUINOS”**

POR:

ERIC CANO HERNÁNDEZ

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

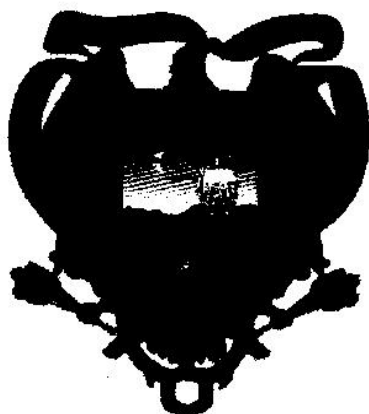
TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DEL 2008

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MONOGRAFÍA

**"EL USO DE CÉLULAS MADRE DE LA MEDULA ÓSEA EN LA
TERAPÉUTICA DE LA TENDINITIS EN EQUINOS"**

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA

PRESIDENTE DEL JURADO

Una firma manuscrita en tinta negra, que parece ser la del presidente del jurado, sobre una línea horizontal.

MVZ. RODRIGO SIDRO SIMÓN ALONSO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Una firma manuscrita en tinta negra, que parece ser la del coordinador de la división regional de ciencia animal, sobre una línea horizontal.

MC. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DEL 2008

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO
"NARRO" UNIDAD LAGUNA**

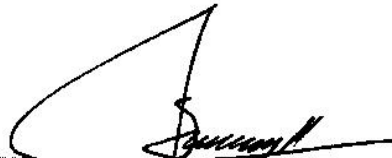
DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**"EL USO DE CÉLULAS MADRE DE LA MEDULA ÓSEA EN LA
TERAPÉUTICA DE LA TENDINITIS EN EQUINOS"**

POR:

ERIC CANO HERNÁNDEZ

MONOGRAFÍA APROBADO POR:



MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO
ASESOR PRINCIPAL



MVZ. SERGIO ORLANDO YONG WONG
COLABORADOR



MC. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS
COORDINADOR DE DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO
"NARRO" UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**"EL USO DE CÉLULAS MADRE DE LA MEDULA ÓSEA EN LA
TERAPÉUTICA DE LA TENDINITIS EN EQUINOS"**

**MONOGRAFÍA ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ
PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

JURADO

PRESIDENTE: _____

MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO

VOCAL: _____

MVZ. SERGIO ORLANDO YONG WONG

VOCAL: _____

MC. JOSÉ LUÍS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS

VOCAL SUPLENTE: _____

MVZ. EDMUNDO GUZMÁN RAMOS

TORREÓN COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DE 2008

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Primeramente por haberme dado la vida, y con ella los mejores padres que si de alguna forma hubiera tenido la oportunidad de elegirlos nunca podría haber elegido los mejores padres que el me dio. Le doy gracias por darme la inteligencia, sabiduría, comprensión, entendimiento y la fuerza para seguir adelante.

A MI "ALMA TERRA MATER": Por abrirme sus puertas y haberme brindado la oportunidad de formar parte de ella, pero sobre todo por haberme formado como profesionalista.

A MIS PADRES: Por todo su apoyo, sus oraciones, su amor, su comprensión y el sacrificio que han hecho por mi durante toda esta etapa de mi vida.

A MI ASESOR: MVZ. Sergio O. Yong Wong y MVZ. Rodrigo I. Simón Alonso. Por brindarme su apoyo para realizar mi monografía y obtener mi título de Médico veterinario zootecnista. Muchas gracias.

A MIS MAESTROS: Dr. Muñoz, MC. Ezequiel castillo romero, MC. Pedro Robles Trillo, MC. Ma. Hortensia cepeda, MVZ. Sergio O. Yong Wong y Dr. Carlos Ramírez.

A MIS AMIGOS: Israel de Roa, Javier zunnun, Karla Fernández, Jorge Ortiz, Noel de Roa, Édgar Ángeles, magdiel Cruz, mariana Longoria, alejando santos, Leonardo Trejo, Antonio serrano, Maximino marcial, Bernardo Mejía, Juan Emilio Santiago, Daniel Ibarra, Angélica belio, Juan Carlos becerril, Zaira santana, Artemio serna, Cecilia López, Edith Gutiérrez, Mónica medina, Sandra Marcelino, Jesús granados, Arturo Gonzales, Isai Mateo, Enrique Gonzales, Claudio Gonzales, Israel mateo, Héctor Martínez, por su amistad, su afecto y por sus palabras de animo.

A COMPAÑEROS Y FAMILIARES: a todas aquellas personas que alguna ves me dieron un consejo y una palabra de animo, gracias.

DEDICATORIA

A MIS PADRES: especialmente y con todo mi amor.

Quienes han sido el más grande tesoro y el motor que me inspira para seguir adelante cada día con mis objetivos y metas. Por su apoyo moral, económico y sentimental, constante e incondicional que me han brindado, pero sobre todo por sus consejos y por enseñarme los principios para ser una buena persona. Gracias por confiar en mi, siempre estaré en deuda con ustedes ya que no pude haber tenido mejores padres en esta vida al Sr. Florentino Cano Hernández y la Sra. Soledad Hernández Ramírez. Los amo y que dios me los bendiga.

A MIS HERMANOS: Laura, Elisa, Joel, Elda, Eliseo, David y Gilberto, a ustedes por haber confiado en mi, por su apoyo económico y moral, sus consejos, comprensión, cariño. Gracias hermanos nunca olvidare lo que han hecho por mi, son una pieza muy importante en mi vida. Los quiero mucho y siempre estaré agradecido con ustedes por todo el sacrificio que hicieron y de todo de lo que se prohibieron para que a mi no me hiciera falta. Doy gracias ha dios por tener a cada uno de ustedes en mi vida.

A MI ABUELA: Ma. Guadalupe Ramírez por sus sabios consejos, su cariño y amor. Te amo abuelita.

ÍNDICE GENERAL

| | PAG. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| AGRADECIMIENTO..... | i |
| DEDICATORIA..... | ii |
| ÍNDICE GENERAL..... | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | iv |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| I. EL USO DE CELULAS MADRE EN LA TERAPEUTICA DE LA TEND- DINITIS EN EQUINOS..... | 2 |
| 1.1 CÉLULAS MADRE..... | 2 |
| 1.2 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE TENDONES Y LIGAMENTOS..... | 5 |
| 1.2.1 Fisiopatología..... | 7 |
| 1.3 TENDINITIS..... | 8 |
| 1.3.1 Causas..... | 10 |
| 1.3.2 Hallazgos clínicos y diagnostico..... | 11 |
| 1.4 TRATAMIENTO..... | 14 |
| 1.4.1 Antecedentes..... | 15 |
| 1.4.2 Factores de crecimiento..... | 16 |
| 1.5 ADQUISICIÓN Y APLICACIÓN DE CÉLULAS MADRE..... | 17 |
| CONCLUSIONES..... | 20 |
| REFERENCIAS..... | 21 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| FIGURAS | PAG. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Fig. 1 Potencialidad de las células madre embrionarias..... | 2 |
| Fig. 2 Células madre derivadas de la medula ósea; hematopoyéticas y mesenquimales o del estroma..... | 4 |
| Fig. 3 Estructura del tendón..... | 5 |
| Fig. 4 Tendones de las patas..... | 9 |
| Fig. 5 Diagnostico de la tendinitis por los signos clínicos mediante la palpación del tendón y la utilización de la ultrasonografía para determinar la localización, extensión y el grado de la lesión..... | 11 |
| Fig. 6 La localización del tendón flexor digital superficial y la comparación con el miembro normal contralateral, es útil para determinar la presencia de una tendinitis..... | 13 |
| Fig. 7 Extracción y aplicación de células madre..... | 17 |

RESUMEN

Las células madre (CM) están emergiendo rápidamente como la siguiente frontera en la medicina humana y animal. Tienen gran potencial terapéutico y biotecnológico no solo para sustituir el daño o disfunción de las células dañadas, sino para rescatarlas y/o liberar proteínas terapéuticas después de que hayan sido manejadas para hacerlo. Por lo tanto, cuentan con el potencial de transformar la faz de la terapéutica biomédica. Estas células pueden ser divididas en células madre embrionarias totipotentes y CM adultas.

Las CM embrionarias se obtienen en el desarrollo embrionario temprano, en la etapa conocida como blastocisto (3 a 5 días de edad de los embriones). Estas células son en este momento indiferenciadas y tienen el potencial de diferenciarse en cualquier tejido y órgano del cuerpo.

Las CM adultas su función es la de diferenciarse en los diferentes tipos de células en los órganos y tejidos en los que residen y reparar los daños. Las CM adultas se encuentran en muchos órganos específicos incluidos los tejidos hematopoyéticos, mesenquimales, neural, adiposo, gastrointestinal, hepático, epidermal, medula ósea y otros.

Entre las CM adultas se encuentran las células madre derivadas de la medula ósea, estas proceden de dos tipos de poblaciones de CM. En primer lugar, las CM hematopoyéticas que dan lugar a células de la sangre. La segunda población son las células mesenquimales o del estroma; que son células multipotentes que se pueden estimular para diferenciarse en una serie de tejidos incluyendo el músculo, nervio, grasa, tejido fibroso, cartílago y hueso.

Las CM que existen en la medula ósea tienen la capacidad de reproducirse así mismas ilimitadamente y de desarrollarse en muchos y diferentes tipos celulares del organismo, sirviendo como una clase de sistema reparador.

Por muchos años se han utilizado diferentes métodos para promover la curación de los ligamentos y tendones. Entre los tratamientos tradicionales se encuentran: el reposo, inmovilización, fisioterapia, laser frío, acupuntura, punto de fuego, barroteado, contrairritantes, división quirúrgica de ligamentos suspensores y tendones flexores, inyecciones intra y peri lesionales de yodo,

aceite de almendras, **ácido hialurónico**, esteroides, fumarato de aminopropionitrilo y terapia de shock de onda (SWT).

Durante los últimos 10 años, se ha utilizado un nuevo enfoque biológico para facilitar el tratamiento y/o curación de lesiones en tendones y ligamentos en caballos con células madre mesenquimales. Este enfoque implica la inyección intralesional de CM autóloga y componentes asociados con la medula ósea a estimular la regeneración natural del ligamento.

La inyección percutánea de medula ósea para curación del ligamento se informó en 1987 pero en 1995 se iniciaron los estudios sobre la medula ósea y su uso terapéutico en el caballo deportivo.

Con base en estudios sobre la estimulación de citocinas y factores de crecimiento se tiene hipótesis que las células madre del equino pueden tener la habilidad de diferenciarse en fibroblastos productores de colágeno, ya que en el caballo con lesión del ligamento suspensorio y tendones flexores estas células pueden ser deficientes y también se asume que estos mismos fibroblastos pueden ser estimulados para producir más colágeno.

Para utilizar terapéuticamente las células madre de la medula ósea son recolectadas, generalmente por aspiración medular. Los caballos son intervenidos bajo anestesia general intravenosa y la intervención se realiza en el caballo en pie o se posicionan en recumbencia dorsal. Posteriormente se efectúa una preparación aséptica de la región del tendón afectado o ligamento suspensorio, así como del área del esternón.

Para la recolección se utiliza una jeringa de 60 ml adherida a una aguja de aspirado medular desechable calibre 10, para aspirar de 20 a 30 ml de medula ósea líquida procedente de la esternebra. El extracto se transfiere inmediatamente a jeringas de 5 y se inyecta en la lesión guiada a través de agujas calibre 18 previamente colocadas y guiadas al sitio de la lesión mediante el ultrasonido.

Cada lesión es llenada con un total de 10 a 20 ml de medula ósea fresca, sin adicionar antibiótico o anticoagulante. En lesiones múltiples se requiere mayor cantidad de aspirado de medula ósea, por lo que se puncionan varios sitios del esternón (esternabras) para prevenir la dilución de la medula con sangre.

Las dos semanas posteriores a la intervención quirúrgica consisten en descanso del animal en la caballeriza, con paseo de mano sin montar al

animal, esta rutina se realiza diariamente durante diez minutos dos veces al día.

Es necesario y de suma importancia que el caballo este en movimiento y no solo en descanso puesto que el ejercicio estimula la producción de colágeno. Además el apoyo temprano del miembro afectado es crucial para lograr una buena calidad y alineamiento de las fibras de colágeno. Así pues, transcurridas dos semanas del trasplante medular, se inicia un programa de ejercicio controlado montando al caballo, ejercicio que se complementa sometiendo a nadar al animal. A continuación se examinan los caballos aproximadamente a los 60, 120 y 180 días por exploración clínico y ultrasonográfica.

Relativamente se han reportado pocos efectos adversos de las células madre. Se ha reportado áreas de osificación y supresión del sistema inmunológico en algunos animales tratados con MSCs para regeneración del tendón patelar, sin embargo, esto todavía no ha ocurrido en el uso clínico de células madre para el tratamiento de lesiones del tendón en equinos.

Palabras clave: células madre adultas, regeneración tendones y ligamentos, terapéutica, equinos.

INTRODUCCIÓN

Cualquier nueva tecnología, creará una laguna en el pensamiento ético social. En pocas palabras, los nuevos y potentes dispositivos, así como herramientas, cuando se introdujeron por primera vez, nos preguntamos la causa acerca de los efectos positivos y negativos o las repercusiones que tendrá sobre nuestras vidas. ⁽¹⁾

El “debate ético” del uso de las células madre (CM) es un ejemplo perfecto. Como se puede determinar, hay muy pocas o ninguna, cuestión ética genuina relacionada con la tecnología de CM ya sea en personas o animales. ⁽¹⁾

Las CM están emergiendo rápidamente como la siguiente frontera en la medicina humana y animal. Tienen gran potencial terapéutico y biotecnológico no solo para sustituir el daño o disfunción de las células dañadas, sino para rescatarlas y/o liberar proteínas terapéuticas después de que hayan sido manejadas para hacerlo. Por lo tanto, cuentan con el potencial de transformar la faz de la terapéutica biomédica. ⁽²⁾

Una de las principales aplicaciones potenciales de las CM en medicina veterinaria y para la medicina humana es para la ingeniería de tejidos donde el objetivo final es proporcionar “fuera de esta plataforma” a los órganos y tejidos. ⁽²⁾

I. EL USO DE CÉLULAS MADRE DE LA MEDULA ÓSEA EN LA TERAPÉUTICA DE LA TENDINITIS EN EQUINOS

1.1 CÉLULAS MADRE

La CM se define como célula progenitora, autorrenovable que posee una extensa, o tal vez indefinida, proliferación potencial, capaz de diferenciarse en varios linajes celulares. ^(3, 4, 5)

Cuando una CM se divide, cada célula nueva tiene la capacidad de permanecer como CM o bien transformarse en otro tipo de célula con una función mas especializada como células musculares, eritrocitos neuronas o fibroblastos. Estas células pueden ser divididas en células madre embrionarias totipotentes y CM adultas. ^(3, 4, 5, 6)

Las CM embrionarias se obtienen en el desarrollo embrionario temprano, en la etapa conocida como blastocisto (3 a 5 días de edad de los embriones). Estas células son en este momento indiferenciadas y tienen el potencial de diferenciarse en cualquier tejido y órgano del cuerpo. Este enorme potencial ha fomentado grandes esperanzas para el desarrollo de tratamientos celulares para una amplia gama de enfermedades. Teóricamente, estas CM pueden extraerse del embrión y ser trasplantadas. Las cuestiones de ética del uso de embriones para extraer las células para estos tipos de tratamientos son complejas y controvertidas sobre todo en humanos. ^(1, 3, 4)

Las CM embrionarias fueron retiradas de embriones en 1998 por James Thomson en la universidad de Wisconsin. Thomson procedió a crear cinco líneas celulares, en las que las poblaciones de células madre embrionarias continúan creciendo y se dividen en cultivos y siguen siendo indiferenciadas. Las CM fueron tomadas de embriones excedentes que fueron derivados de la fertilización in vitro. ⁽¹⁾

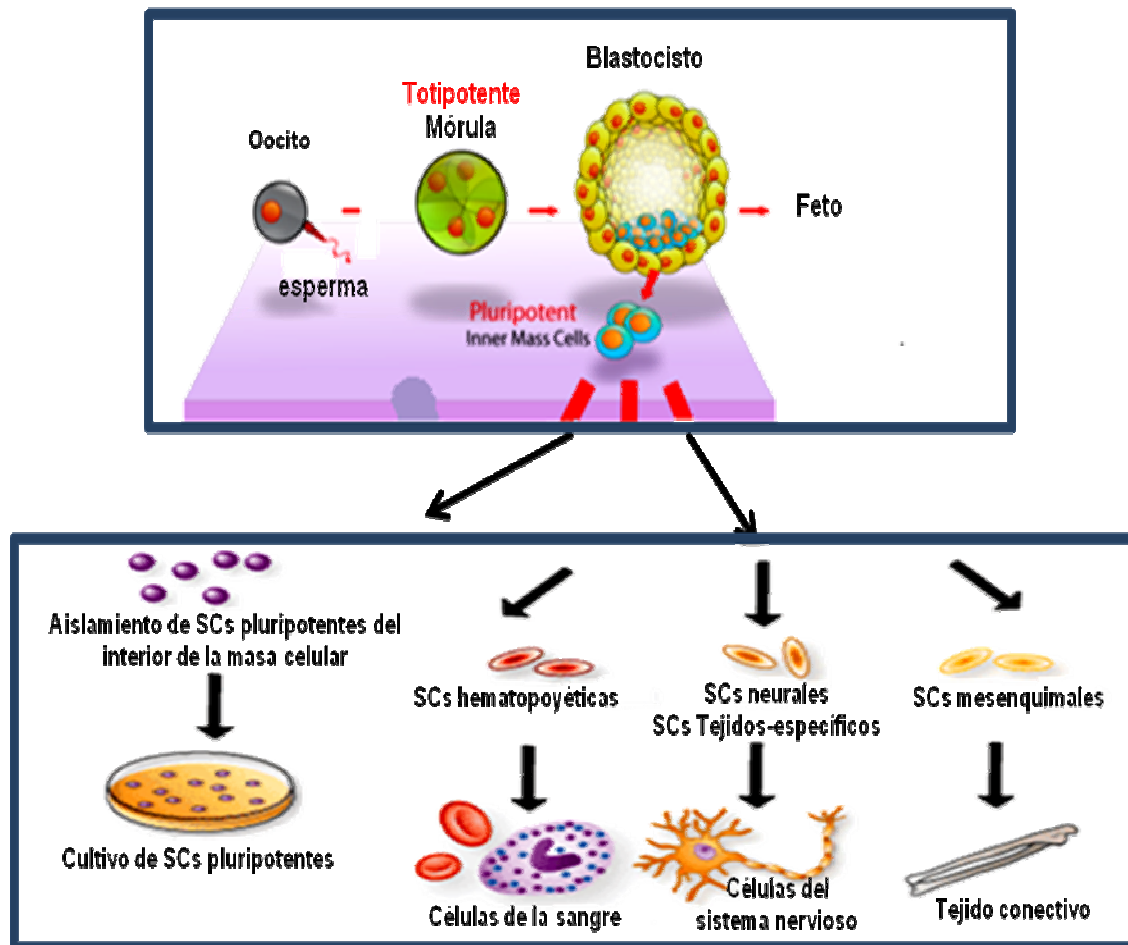


Figura 1. Potencialidad de las células madre embrionarias. ⁽⁷⁾

Las CM adultas su función es la de diferenciarse en los diferentes tipos de células en los órganos y tejidos en los que residen y reparar los daños. Las CM adultas se encuentran en muchos órganos específicos incluidos los tejidos hematopoyéticos, mesenquimales, neural, adiposo, gastrointestinal, hepático, epidermal, medula ósea y otros.

Hasta hace poco, se pensaba que las CM en estos tejidos específicos solo tenían diferenciación potencial especializada y de hecho solo en los componentes celulares del órgano del que se han derivado. Estas células no pueden ser reproducidas indefinidamente. Sin embargo, hay algunas pruebas que las CM adultas conservan un cierto grado de plasticidad, en el sentido de que pueden convertirse en varios tipos de tejidos. ^(1, 3, 4, 8)

Las CM derivadas de la medula ósea proceden de dos tipos de poblaciones de CM. En primer lugar, las CM hematopoyéticas que dan lugar a células de la sangre. La segunda población son las células mesenquimales o del estroma; que son células multipotentes que se pueden estimular para diferenciarse en una serie de tejidos incluyendo el musculo, nervio, grasa, tejido fibroso, cartílago y hueso. ⁽³⁾

El uso de CM mesenquimales derivadas de **autólogo** o incluso fuentes **alógenicas** lisas está mostrando potencial para la regeneración de tejidos esqueléticos. ^(1, 3)

Las células madre mesenquimales (CMSs) pueden dar lugar a osteoblastos (medula), condrocitos (cartílago), tenocitos (tendón y ligamento), fibroblastos (tejido cicatrizal), adipositos (grasa), miofibroblastos. ⁽⁶⁾

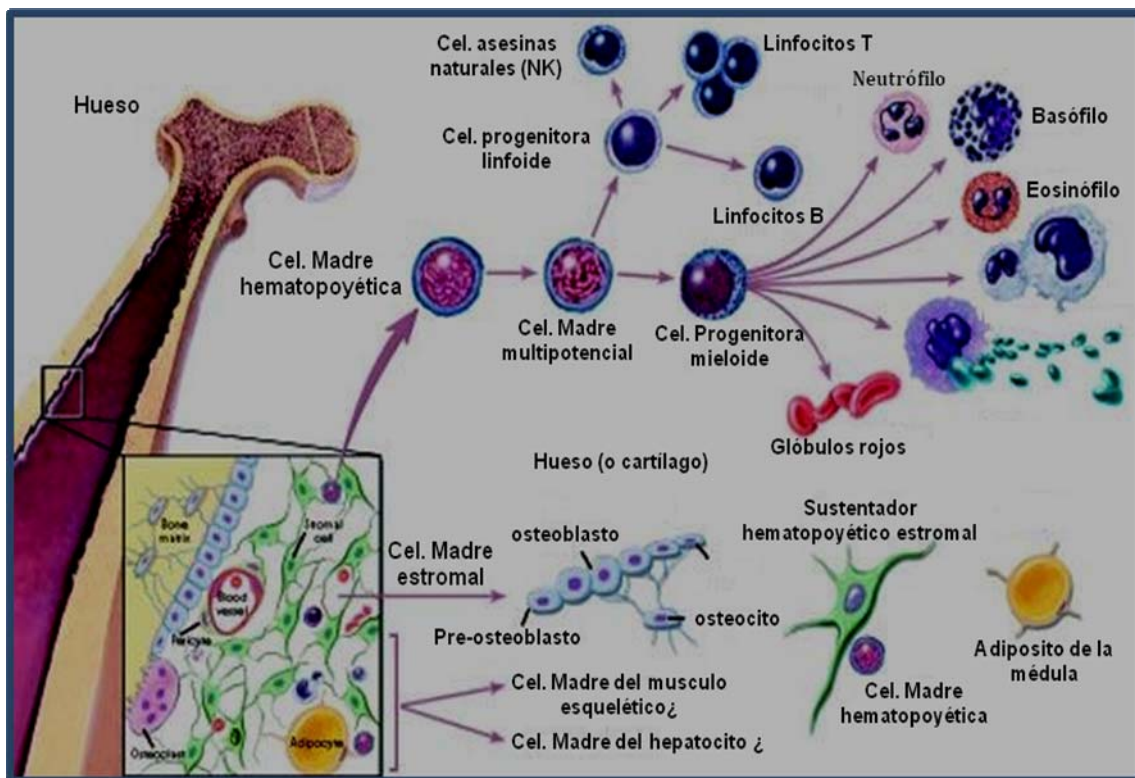


Figura 2. Células madre derivadas de la medula ósea; hematopoyéticas y mesenquimales o del estroma. ⁽⁹⁾

Las CM que existen en la medula ósea tienen la capacidad de reproducirse así mismas ilimitadamente y de desarrollarse en muchos y

diferentes tipos celulares del organismo, sirviendo como una clase de sistema reparador. ⁽⁵⁾

1.2 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE TENDONES Y LIGAMENTOS

Los tendones y ligamentos juegan un importante rol, en la locomoción del equino, son los que mantienen los huesos en su lugar y permiten a los músculos hacer su trabajo en la creación de propulsión. Debido a la carga de trabajo a menudo a ellos, son sitios frecuentes de lesiones y enfermedades. Actúan no sólo para transmitir fuerzas entre los músculos y huesos, sino también, como estructuras transmisoras de fuerza en la unión musculo esquelética. ^(10, 11)

En general los tendones y ligamentos presentan una estructura similar, pero, en términos generales, los tendones son más flexibles y tienen más capacidad de estiramiento. ^(10, 11)

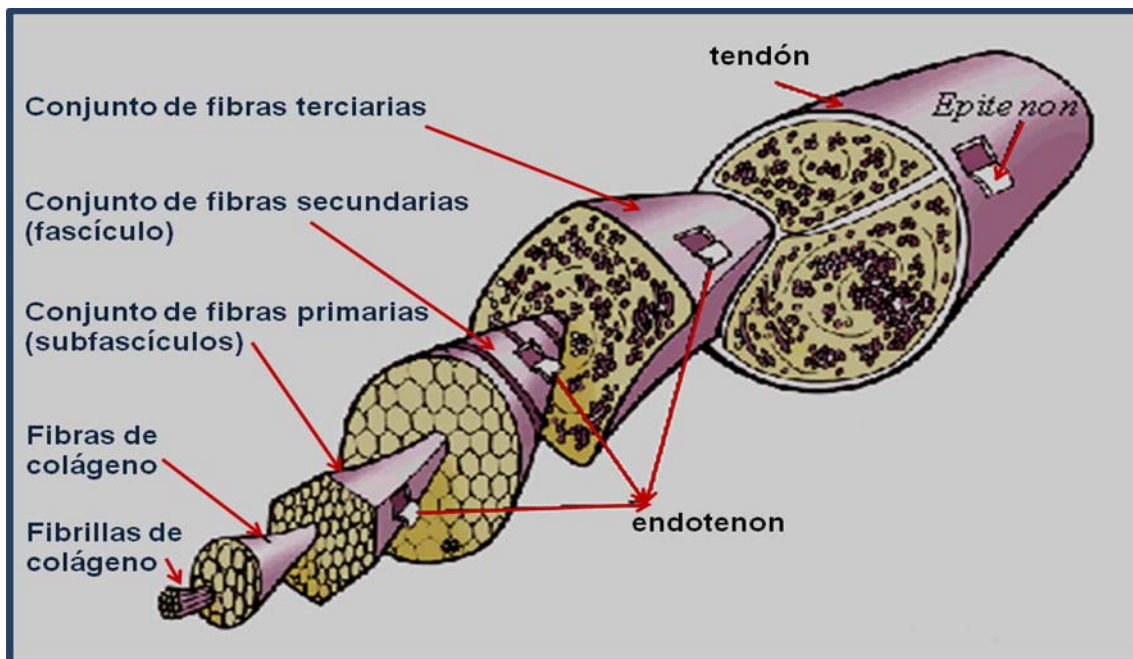


Figura 3. Estructura del tendón. ⁽¹²⁾

Estos tejidos blandos están compuestos principalmente de fibras de colágeno tipo I, tipo II (colágeno en el cartílago) y una pequeña proporción de colágeno tipo III dispuestas a lo largo del eje longitudinal del tendón. La unidad básica del tendón se denomina endotendón, en esta estructura encontramos

las fibras de colágeno rodeadas por una matriz de mucopolisacáridos y además encontramos tenocitos y tenoblastos, los cuales se distribuyen desordenadamente a lo largo de las fibras de colágeno. Los fibrocitos se diferencian en tres tipos de células con roles específicos aún no descritos, sin embargo, actualmente, se sabe que éstos, son los responsables de mantener la matriz extracelular. Posteriormente el endotendón se dispone dentro de fascículos secundarios y terciarios, llamados peritendón y epitendón respectivamente. Externamente el epitendón es envuelto por el paratendón. Este último se modifica, en zonas con alto roce, formando una vaina tendinosa, la cual presenta una hoja visceral adherida al epitendón y una hoja parietal unida a las estructuras adyacentes. Entre ambas hojas se encuentra el líquido sinovial, existiendo puntos donde la hoja visceral se proyecta a la parietal formando el mesotendón o vinculum, punto que sirve de entrada a vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios. Cabe mencionar, que aún cuando los tendones y ligamentos presentan una estructura similar, la subdivisión en fascículos es menos evidente en estos últimos. ^(10, 11,13)

Otros componentes de la matriz extracelular del tendón son la proteína no colagenasa, la cual está recibiendo cada vez más atención en la investigación del tendón debido a su efecto sobre la organización de las fibrillas de colágeno, su papel es la remodelación de la matriz del tendón, y su potencial como "marcador" molecular de la lesión del tendón. ⁽¹⁰⁾

En cuanto al suministro sanguíneo del tendón, se sabe que éste proviene de ambas fuentes; la intratendinosa y extratendinosa, sin embargo el suministro principal proviene de vasos intratendinosos derivados de la unión músculo tendinosa y la unión tendón ósea. ^(10, 11, 13)

La composición y estructura de tendones y ligamentos les permite manifestar propiedades tales como una alta capacidad para resistir tensión, flexibilidad y una casi perfecta elasticidad. Las fibras de colágeno, cuando el tendón está relajado, adoptan una forma sigmoidea (onda plana) a lo largo del tendón. Cuando el tendón es sometido a carga, esta onda desaparece y las fibras se elongan. Esta estructura sigmoidea se podrá recuperar sólo si la

elongación no sobrepasa el 3% del largo del tendón. Sobrepasado este límite el tendón manifiesta propiedades visco elásticas, sufriendo cambios estructurales irreversibles y ruptura total si la elongación supera el 8%.^(11, 13)

1.2.1 Fisiopatología

La información clínica que actualmente existe de la etiopatogenia asociada con la **tendinopatía** tanto en los caballos y los seres humanos sigue siendo un tema de controversia y confusión. Clásicamente, la etiología de tendinopatía se ha vinculado a la realización de actividades repetitivas (llamadas lesiones por sobreuso). A menudo esta "tensión inducida " no provoca una reacción inflamatoria clínica evidente o una respuesta reparativa, sino más bien el resultado de un insidioso y progresivo debilitamiento del tendón haciéndolo más susceptible a los daños acumulativos. Si bien se han propuesto numerosas etiologías, que van desde daño térmico a la senescencia celular, es probable que la alteración de la interacción célula-matriz y la consiguiente respuesta de mecanotransducción de las células del tendón son los responsables de iniciar la cascada degradativa vista en la tendinopatía. Numerosos investigadores han sugerido que la sobre estimulación de las células del tendón, secundaria a la carga repetitiva, resultan en un patrón de expresión de genes que puede dar lugar a tendinopatía.⁽¹⁴⁾

Muchos estudios en vitro han demostrado una amplia gama de expresiones génicas en las células del tendón después de la exposición a la tensión mecánica. Aunque el nivel exacto (magnitud, frecuencia y duración) de la estimulación mecanobiológica necesaria para mantener la homeostasis normal del tendón no se conoce en la actualidad, es muy probable que un nivel anormal de la estimulación pueda desempeñar un papel en la etiopatogenia.

Las fibras centrales del tendón son las primeras en sentir la tracción de carga. Por lo tanto, es posible que el núcleo de la lesión tendinopática visto en el tendón flexor superficial equino es un resultado directo de la alteración de las interacciones célula-matriz secundarias a el daño fibrilar aislado.⁽¹⁴⁾

Es probable que la magnitud del daño fibrilar dicte la medida de la respuesta celular y de la gravedad de los signos clínicos en la tendinopatía. ⁽¹⁴⁾

Si bien el daño fibrilar y celular inicial no es suficiente para inducir una respuesta inflamatoria, pero los resultados en la muerte celular a través de la apoptosis y la degeneración localizada de la lesión de la matriz puede permanecer oculto. Cuando ocurre el daño suficiente para incitar una respuesta inflamatoria importante la degeneración puede ya estar presente. ⁽¹⁴⁾

La tendinitis puede ir desde la inflamación a la ruptura de las fibras de colágeno, la sobre estimulación de las células del tendón y ligamento provoca hemorragia e infiltración de macrófagos, que eliminan la necrosis y liberan citocinas, especialmente factores de crecimiento. El factor de crecimiento β (TGF β) es una citocina importante puesta en libertad en la lesión del tendón actuando como un agente que produce inflamación. ⁽¹⁵⁾

Una respuesta de quimiotaxis y la proliferación de fibroblastos disparan las células. Estas células actúan como o se diferencian en tenocitos y sintetizan colágeno tipo I, III y V en el tejido cicatrizal. ⁽¹⁴⁾

Estudios experimentales han demostrado que la estimulación mecanobiológica baja de las células del tendón también puede producir un patrón de expresión de genes catabólicos que se traduce en la degradación de la matriz extracelular y la posterior pérdida de las propiedades del material del tendón. ^(14, 15)

1.3 TENDINITIS

La tendinitis o tendinitis (del griego Tevovtitic 'itis' denota inflamación o hinchazón) se considera como una inflamación dolorosa de un tendón, sin embargo, rara vez hay mucha inflamación asociada con la condición, por lo tanto, tendinitis es un termino inexacto, actualmente se esta usando el termino tendinopatía. ^(16, 17, 18)

Resientes investigaciones indican que tendinopatía es una lesión por sobre uso que produce micro-gota en las fibras musculares dando lugar a un aumento de células en la reparación del tendón, sin embargo, una ausencia de células inflamatorias. Esto puede dar lugar a una reducción de la resistencia a la tracción, aumentando así la posibilidad de ruptura del tendón. La tendinitis normalmente involucra ruptura de las fibras del tendón. (16, 17, 18)

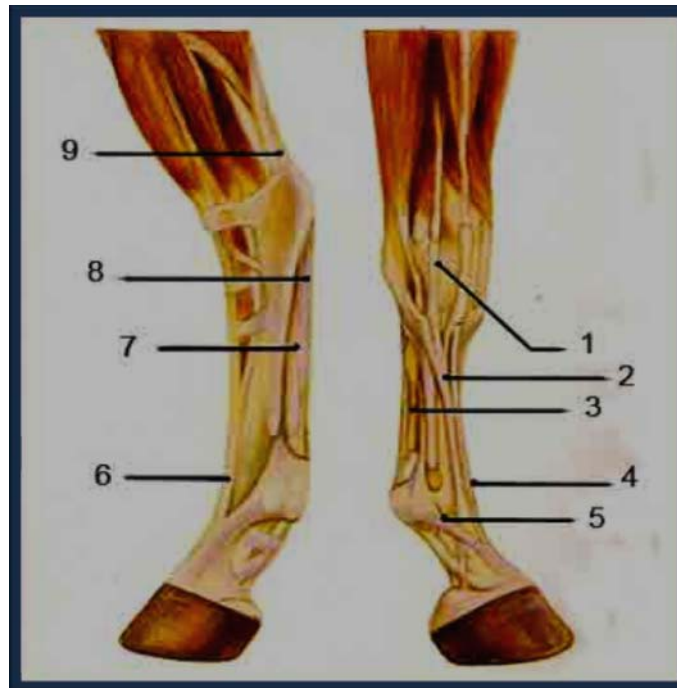


Figura 4. Tendones de las extremidades torácicas: 1. Tendón de Aquilles, 2. Tendón flexor superficial, 3. Tendón flexor interior, 4. Tendón del extensor del dedo, 5. Extensor lateral del dedo, 6. Tendón extensor superficial, 7. Tendón flexor profundo y 8. Tendón extensor del dedo. (22)

Las lesiones del ligamento suspensorio y los tendones flexores son problemas frecuentes de los caballos deportivos, es un problema perplejo para veterinarios, dueños y entrenadores. La tendinitis y desmitis resultan una perdida significativa a la industria equina cada año, generalmente estas lesiones sanan muy lentamente y cuando el caballo regresa a su actividad deportiva tiene un índice de recurrencia muy alto que puede producir un retiro de por vida de la pista de carreras o de ves en cuando eutanasia. (5, 6, 15, 19)

El problema normalmente es mas visto en los tendones flexores de las extremidades torácicas que en las pélvicas. De ellos, el flexor superficial esta mas implicado. (15, 17, 20, 21)

1.3.1 Causas

La tendinitis normalmente aparece después del ejercicio rápido y se asocia con extensión excesiva sin adiestramiento y acondicionamiento adecuado, fatiga, mala conformación y entrenamiento persistente cuando ya existen problemas inflamatorios en el tendón. (16, 17)

La fatiga es la causal más importante, la mayoría de los tendones se lesionan al final de la carrera, cuando el esfuerzo llega a su máximo y con ella algunas veces una fatiga temprana debido a la falta de condición física. No se puede descartar jamás las malas condiciones del terreno (pistas resbalosas, con agujeros, etc.) pueden cambiar con mucha facilidad el equilibrio y entonces, tanto los tendones como los huesos pueden sufrir el percance. (16, 17, 20)

Después de que las fibras del tendón se rasgan o rompen, la vaina también se lesiona llenándose de fluido (edema), creando inflamación y cojera en le área así como el aumento de la presión. El aumento de la presión puede dañar las fibras de colágeno ilesas y previniendo el flujo de sangre al área (16, 17, 20)

1.3.2 Hallazgos clínicos y diagnostico

La tendinitis generalmente se categoriza y diagnostica por los signos clínicos de calor, aumento de volumen y dolor a la palpación del tendón, aunado a la presencia o no de claudicación. Sin embargo, los signos clínicos frecuentemente aparecen posteriores a las lesiones del tendón, y un caballo con signos clínicos leves puede estar en el umbral de una tendinitis que sea lo suficientemente severa como para evitar su retorno a la pista de carrera. (17)

Durante el estadio agudo, el caballo presenta, cojera grave y el área afectada esta hinchada, caliente y dolorosa cuando se palpa. Si es leve, la inflamación puede no ser evidente, aunque habrá calor y dolor en el área, así como leve cojera. Si es mas grave, la lesión normalmente es acompañada por

cojera moderada (2-3 en una escala de 5) con hinchazón evidente. En los casos crónicos hay fibrinosis con engrosamiento y adherencias en el área peritendinosa. El caballo con tendinitis crítica puede estar bien mientras camina o trote, pero puede recurrir la cojera bajo condiciones de trabajo duro. (17, 20)



Figura 5. Diagnostico de la tendinitis por los signos clínicos mediante la palpación del tendón y la utilización de la ultrasonografía para determinar la localización, extensión y el grado de la lesión.

La sola utilización de los métodos clínicos rutinarios y convencionales no establece específicamente la lesión ni el grado de la misma, mientras que la ultrasonografía permite determinar la localización, extensión y naturaleza del trauma del tendón en los equinos. Siendo una técnica no invasiva, la ultrasonografía provee de información sobre la estructura y función de tendones y ligamentos. Esta técnica proporciona una evaluación más precisa del grado de daño del tendón y una mejor definición del pronóstico, permitiendo así las pruebas sobre la eficacia de la terapia para la tendinitis. (15, 21)

El conocimiento de los patrones ultrasonográficos normales de los tendones y ligamentos es necesario para el diagnóstico de las lesiones de estas estructuras. Los tendones y ligamentos, como el resto de los tejidos blandos, tienen propiedades que dependen de su estructura, como son: la impedancia acústica, reflexión, refracción y atenuación, que determinan en conjunto la ecogenicidad de éstos y que a su vez ésta puede ser dividida en

distintos grados, desde el más ecogénico ó hiperecoico, hasta el menor grado de ecogenicidad o anecoico. ⁽²¹⁾

Cabe mencionar que la ecogenicidad de una estructura es en función de cómo el eco es disperso dentro de la estructura y cómo es reflejada nuevamente al transductor. Está en relación con la densidad y el contenido en agua o líquidos en general de los tejidos. ⁽²³⁾

Las interpretaciones ecográficas son; ecogénico o hiperecoico: ecos brillantes, blancos (Interfase que refleja mucho los ultrasonidos), hipoecoico o eco relativamente claro: ecos claros, gris oscuro (Distintas tonalidades de gris dependiendo de la proporción en grasa, tejido fibroso y líquidos), y anecoico: eco claro: ausencia de ecos, negro (Representa una transmisión completa del sonido). Para el examen ecográfico tendíneo se recomienda usar un transductor lineal con una frecuencia entre 7.5 a 10 MHz. ⁽²³⁾

En cada zona las estructuras pueden ser examinadas en una sección longitudinal y/o sagital. En el primer caso se obtiene un corte longitudinal del miembro, lo que se logra ubicando el transductor en forma paralela a éste. En la sección sagital se hace un corte transversal del miembro, esto se logra al girar el transductor en 90° desde la posición longitudinal. Se recomienda tomar siempre las dos vistas, ya que un corte longitudinal puede entregar información que no se obtendría con sólo el corte sagital, y vice versa. ⁽²³⁾

El conocimiento del área trasversal de cada zona de un tendón normal o la comparación con el miembro normal contralateral, es útil para determinar la presencia de una tendinitis leve, ya que el área trasversal total del tendón (ATT) afectado puede estar aumentada de tamaño con preservación del alineamiento de sus fibras en esos casos. La medición del área trasversal del tendón y del área trasversal de la lesión, permite el cálculo del porcentaje de daño del tendón. Este cálculo es útil para la evaluación precisa de las lesiones tendinosas y su respuesta al tratamiento. ⁽²¹⁾



Figura 6. La localización del tendón flexor digital superficial y la comparación con el miembro normal contralateral, es útil para determinar la presencia de una tendinitis. ⁽²⁶⁾

Los hallazgos ultrasonográficos se categorizan de la siguiente manera basándose en la ecogenicidad y extensión de la lesión: Grado I: pérdida difusa de la densidad de las fibras del tendón; Grado II: presencia de un área anecoica que abarca menos del 50% del área transversal del Tendón (ATT); Grado III: presencia de un área anecoica que abarca más del 50% del área transversal del total del tendón; Grado IV: 90% o más del área total del tendón (ATT) afectada (ruptura del tendón). Cuando se observó una hiperecogenicidad difusa de alguno de los tendones de los flexores digitales se categorizó como Fibrosis. ⁽²¹⁾

1.4 TRATAMIENTO

Por muchos años se han utilizado diferentes métodos para promover la curación de los ligamentos y tendones. Sin embargo, estas técnicas han mostrado beneficios limitados. Por esta razón, las terapias convencionales para el tratamiento de la tendinitis no han sido satisfactorias.

Entre los tratamientos tradicionales se encuentran: el reposo, inmovilización, fisioterapia, laser frio, acupuntura, punto de fuego, barreteado,

contrairritantes, división quirúrgica de ligamentos suspensores y tendones flexores, inyecciones intra y peri lesionales de yodo, aceite de almendras, **ácido hialurónico**, esteroides, fumarato de aminopropionitrilo y terapia de shock de onda (SWT).^(5, 6)

Los tendones sanan por la formación de tejido cicatrizal que es mecánicamente y bioquímicamente inferior al tendón normal. A pesar del largo período necesario para la reparación del tendón, el tejido cicatrizal presenta falta de elasticidad y rigidez para resistir repetidamente la fuerza de alta tensión.

Para evitar estas consecuencias adversas, las nuevas estrategias de tratamiento deben de proponer evitar la formación de excesivo tejido fibroso. Terapias que influyan en la calidad y velocidad de reparación del tendón.^(5, 6, 8, 15, 18, 19, 24)

Los acontecimientos recientes en la biología de las CM han dado lugar a la posibilidad de utilizar estas células para regenerar tejido normal en lugar de un proceso de reparación como resultado de una cicatriz relacionada a la matriz.⁽³⁾

El uso de trasplante de medula ósea **autóloga** para aumentar la curación ósea no es nuevo y ha sido descrito en numerosos textos de ortopedia veterinaria y humana. En el tendón, tales estudios han sido más limitados. Durante los últimos 10 años, se ha utilizado un nuevo enfoque biológico para facilitar el tratamiento y/o curación de lesiones en tendones y ligamentos en caballos con células madre mesenquimales. Este enfoque implica la inyección intralesional de CM autóloga y componentes asociados con la medula ósea a estimular la regeneración natural del ligamento.^(8, 17, 19, 25)

1.4.1 Antecedentes

La inyección percutánea de medula ósea para curación del ligamento se informó en 1987 por Pierce de Amgen, Inc. Pierce reportó que plaquetas derivadas del factor de crecimiento y la transformación del factor de

crecimiento β en células de la medula ósea mejora la cicatrización de heridas en ratas al estimular la síntesis de colágeno. ⁽⁸⁾

En 1995 se iniciaron los estudios sobre la medula ósea y su uso terapéutico en el caballo deportivo. ⁽⁵⁾

Douglas et Herthel (Entre octubre de 1995 y diciembre de 1998) trataron 100 caballos para desmitis suspensoria usando el procedimiento intralesional con medula espinal **autóloga**. El rango de edad de los caballos fue de 2 a 24 años de edad. ^(5, 8)

Young et Osiris (1998) uso un conejo de modelo para demostrar la reparación de una lesión al implantar células madre mesenquimales en el tendón de Aquiles. Los resultados después de 12 semanas mostraron la regeneración de tejido nuevo propio en el tendón defectuoso. ^(6, 8)

Awad *et al* (1999) usaron un modelo similar al de conejo pero investigaron lesiones en el tendón patelar. ⁽⁶⁾

Herthel (2001) utilizo CM para el tratamiento de lesiones de tejidos blandos usando la administración intra-ligamentosa directa de medula ósea dentro del ligamento suspensorio lesionado con resultados prometedores. ⁽⁶⁾

Rosenbrock et al (2004) trataron 24 caballos por lesiones suspensorias serias, agudas o moderadas a severas cojeras causados por desmitis suspensoria crónica. La población del estudio consistió de caballos de 3 a 5 años de edad. ⁽²⁵⁾

Anguiano-estrella et al (2005) diagnosticaron lesiones en tendones flexores y ligamento suspensorio en 10 equinos de razas deportivas Cuarto de Milla, Pura Sangre Ingles, Árabe y pura raza Española, los cuales fueron tratadas por medio de la inyección intralesional de medula ósea autóloga fresca, la cual fue aspirada del esternón. ^(5, 25)

1.4.2 Factores de crecimiento

Con base en estudios sobre la estimulación de citocinas y factores de crecimiento se tiene hipótesis que las células madre del equino pueden tener la habilidad de diferenciarse en fibroblastos productores de colágeno, ya que en el caballo con lesión del ligamento suspensorio y tendones flexores estas

células pueden ser deficientes y también se asume que estos mismos fibroblastos pueden ser estimulados para producir más colágeno. Hay poca evidencia científica para apoyar cualquiera de estas demandas, sin embargo, ello pueden ser útil en otras investigaciones. ^(5, 19)

Los factores de crecimiento son moléculas señal-péptido que regulan el metabolismo celular. Los factores de crecimiento refuerzan el tendón y ligamentos lesionados que van aumentando la síntesis de matriz extracelular (ECM) para promover la proliferación y diferenciación celular y por estimulación vascular en crecimiento. ⁽¹⁹⁾

1.5 ADQUISICION Y APLICACIÓN DE CÉLULAS MADRE

Para utilizar terapéuticamente las células madre de la medula ósea son recolectadas, generalmente por aspiración medular. ⁽²⁾

El aspirado de medula ósea contiene aproximadamente de 2 a 7 células madre por cada 100,000 células nucleadas, contiene también numerosos factores de crecimiento, macrófagos, **neutrófilos**, plaquetas, fibrinectina, fibrinógeno y células endoteliales. Todos estos componentes tienen la capacidad de facilitar la regeneración de ligamentos y tendones. Esto ha llevado a sugerir que este tratamiento se parece más a un factor de crecimiento que un tratamiento basado en la terapia celular. ^(5, 6)

Los caballos son intervenidos bajo anestesia general intravenosa y la intervención se realiza en el caballo en pie o se posicionan en recumbencia dorsal. Posteriormente se efectúa una preparación aséptica de la región del tendón afectado o ligamento suspensorio, así como del área del esternón. Las esterneras son identificadas por palpación. En un área de 12 a 15 cm craneal al cartílago xifoides y un cm lateral a la línea media. ^(5, 8, 19, 25)

Para la recolección se utiliza una jeringa de 60 ml adherida a una aguja de aspirado medular desechable calibre 10, para aspirar de 20 a 30 ml de medula ósea líquida procedente de la esternera. El extracto se transfiere inmediatamente a jeringas de 5 y se inyecta en la lesión guiada a través de agujas calibre 18 previamente colocadas y guiadas al sitio de la lesión mediante el ultrasonido. ^(5, 8, 25)

Cada lesión es llenada con un total de 10 a 20 ml de medula ósea fresca, sin adicionar antibiótico o anticoagulante. En lesiones múltiples se

requiere mayor cantidad de aspirado de medula ósea, por lo que se puncionan varios sitios del esternón (esternebras) para prevenir la dilución de la medula con sangre. ⁽⁵⁾



Figura 7. Extracción y aplicación de células madre. ⁽¹⁶⁾

La inyección de grandes volúmenes (20-30), no se puede mantener completamente en la estructura y, junto con la presencia de otros tipos de células y tejidos (por ejemplo, hueso astillado), puede ser potencialmente perjudicial para la cicatrización del tendón o ligamento, incluyendo la inducción de la calcificación ectópica. ⁽⁶⁾

Las dos semanas posteriores a la intervención quirúrgica consisten en descanso del animal en la caballeriza, con paseo de mano sin montar al animal, esta rutina se realiza diariamente durante diez minutos dos veces al día. ⁽⁵⁾

Es necesario y de suma importancia que el caballo este en movimiento y no solo en descanso puesto que el ejercicio estimula la producción de colágeno. Además el apoyo temprano del miembro afectado es crucial para lograr una buena calidad y alineamiento de las fibras de colágeno. Así pues, transcurridas dos semanas del trasplante medular, se inicia un programa de ejercicio controlado montando al caballo, ejercicio que se complementa sometiendo a nadar al animal. ^(5, 18)

A continuación se examinan los caballos aproximadamente a los 60, 120 y 180 días por exploración clínico y ultrasonográfica. ^(8, 25)

Desde 1990, el uso de ultrasonido para diagnóstico a detectar, cuantificar y cualificar ligamentos lesionados y curados ha mejorado la habilidad de evaluar la eficacia de los tratamientos designados a promover la curación de ligamentos. En los últimos 6 años, el diagnóstico con ultrasonido, gammagrafía nuclear, tomografía por computadora, examen clínico y el historial ha sido usado para evaluar la eficacia de la inyección intralesional de medula espinal autóloga en caballos con ligamentos lesionados. La comparación ultrasónica de curación entre lesiones similares alto-suspensorias no tratadas y tratadas con células madre y aspiración de medula espinal es significativa. La mejora de calidad de alineación de la fibra, disminuye en echo-luscency ocurre más rápido en ligamentos tratados que en ligamentos no tratados. Las fotografías de ultrasonido en serie quieren ser usadas para demostrar estos resultados. ⁽⁸⁾

Relativamente se han reportado pocos efectos adversos de las células madre. En el uso de MSCs para regeneración del tendón patelar en algunos animales desarrollan áreas de osificación dentro del tendón, sin embargo, esto todavía no ha ocurrido en el uso clínico de células madre para el tratamiento de lesiones del tendón en equinos. Ha habido algunos estudios experimentales que sugieren una supresión del sistema inmunológico. ⁽³⁾

CONCLUSIONES

La ciencia de la biología de células madre está avanzando rápidamente y continúa para aportar pruebas en apoyo del uso clínico de de la terapia de células madre.

El aspirado de medula ósea y su trasplante intralesional en ligamentos y tendones en el equino, ha demostrado un alto grado de eficacia que lo convierte en un procedimiento confiable en comparación con los procedimientos convencionales. Como resultado de ello, creemos que el uso de terapias celulares, combinada con un programa de actividad física controlada, puede acelerar el proceso de reparación de tendón y contribuir de manera decisiva a reducir el período de recuperación. Otros estudios deben ser llevados a cabo para añadir información sobre el ideal y selectivo protocolo para esta técnica.

REFERENCIAS:

1. Bernard E. Rollin. 2006. Ethics and Stem Cell Technology. Proceedings of the annual meeting of the American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology – Tucson, Arizona. December 2-6.
2. Deryl L. Troyer. 2006. Umbilical Cord Matrix Stem Cells: Characterization and Possible Applications. Proceedings of the Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology – Tucson, Arizona. December 2-6.
3. Allen Goodship. 2004. An introduction to the state of stem cell therapy in clinical orthopedics. 12 th ESVOT Congress. Department of Veterinary Surgery, School of Veterinary Medicine Ludwig-Maximilians-Universidad Munich, Germany. September 10th – 12th.
4. Timothy D. O'Brien. 2006. Canine Bone Marrow - Derived Multipotent Adult Stem Cells. Proceedings of the Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology – Tucson, Arizona. Desembre 2-6.
5. Rubén Anguiano-Estrella, José Anguiano-Estrella, Ricardo Topete-Uribe, Ernesto Carrillo-Orozco, Gerardo Coldivar-Peña, José Fermín Anguiano-Islas, Miguel Ángel Ayala-Valdovinos. 2005. Uso clínico de los componentes medulares para estimular la regeneración de los tendones flexores y ligamento suspensorio en los equinos. Avances de la Investigación Científica en el CUCBA. Departamento de Producción Animal, División de Ciencias Veterinarias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Zapopan Jalisco, Mexico. Pág. 584-587.
6. R.K.W. Smith. 2004. Stem cell therapy for tendon and ligament injuries – Clinical results. 12 th ESVOT Congress. Department of Veterinary Surgery, School of Veterinary Medicine Ludwig-Maximilians-Universidad Munich, Germany. September 10th – 12th.
7. Human Embryonic Stem Cell Research (hESR). http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.prolifelouisiana.org/uploads/images/Stem_cells_diagram.png&imgrefurl. Revisada ; 22/11/2008.
8. Douglas J. Herthel. 2001. Enhanced Suspensory Ligament Healing in 100 Horses by Stem Cells and Other Bone Marrow Components. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP, vol. 47: 319-321.
9. Terese Winslow, Lydia Kibiuk. The Adult Stem Cell.

<http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://stemcells.nih.gov/S>

[taticResources/info/scireport/images/figure43.jpg&imgrefurl.](#)
Modificada; 7/10/2006.

10. [R.K. W. Smith](#). 2005. Physiology of Tendon and Ligament. 9th Congress on Equine Medicine & Surgery in Genova, chuit P. International Veterinary Information Service, Ithaca NY. URL disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/geneva/2005/smith2/chapter.asp?LA>.
11. Godoy Pinto, Adolfo. 2000. Tendonitis en equinos de deporte actualización fisiopatología y terapéutica. Medicina y Cirugía de Equinos Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias Universidad de Chile. Monografías de Medicina Veterinaria, Vol. 20(1). URL disponible en: http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_seccion/0,1419,SCID%253D18384%2526ISID%253D442,00.html. 2008-10-16.
12. Graham Riley. Estructura del tendón.

<http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.expertreviews.org/fig001grc.gif&imgrefur>. Modificada; 23/11/2008.
13. *Kimberly S. Brown*. 2001. Tendons and Ligaments: Dubai International Equine Symposium.
<http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=828>. 2008-10-16.
14. Steven P. Arnoczky. 2006. Mechanobiology and the etiopathogenesis of tendinopathy. 13 th ESVOT congress proceedings. September 7th – 10th.
15. Anna Paula Balesdent Barreira, Ana Liz García Alves, Meré E Saíto, Raneé Laufer Amorim, Aguemi Kohayagawa, Bruno Carvalho Menarim, Ligia Sousa Mota. 2008. Autologous Implant of Bone Marrow Mononuclear Cells as Treatment of Induced Equine Tendinitis. Intern J Appl Res Vet Med • Vol. 6, No. 1. Pág. 46-54.
16. http://en.wikipedia.org/wiki/Bowed_tendon. Página modificada por última vez el día 7 de octubre del 2008, a las 14:48.
17. Merk. 2000. El Manual de Merck de Veterinaria. Editorial Oceanía S. A. Quinta Edición. Barcelona España. Pág. 859-862.
18. Michael W. Ross. 1997. Surgical Management of Superficial Digital Flexor Tendinitis. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP. New Bolton Center, University of Pennsylvania. Vol. 43: 291-296.
19. Linda A. Dahlgren. 2005. Review of Treatment Options for Equine Tendon and Ligament Injuries: What's New and How Do They Work? Proceedings of the Annual Convention of the AAEP, vol. 51.

20. Dr. Carlos Guzmán Clark. 2000. Manual Para Entrenadores de Caballos de Carrera. Asociación Para el Desarrollo de la Hípica y Canofila Mexicana A. C. México. Pág. 163-165.

21. Parra, María Lourdes, Sandoval, Jorge, Valeris, Robert *et al.* 2004. Correlación Entre la Evaluación Clínica y Ultrasonográfica de las Lesiones en Tendones Flexores de Miembros Anteriores en Equinos Pura Sangre de Carreras en Venezuela. *RC*, vol.14, no.6, p.506-512.

22. Tendones y ligamentos de las patas.

http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://elenagarzon.iespana.es/musculos_patas.jpg&imgrefurl. Modificada; 22/11/2008.

23. C. Tuemmers, G. Morán. 2005. Hallazgos ultrasonográficos del tendón flexor digital superficial de la región del metacarpo en 40 equinos de polo. *Arch. Med. Vet.* XXXVII, N° 1; Pág. 67-70.

24. Robert D. Lewis. 2001. Lameness in the Rodeo Horse. *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP*, Vol. 47: 1-5.

25. A. Rosenbrock. 2004. Autologous bone marrow transplantation to stimulate suspensory ligament regeneration in 24 horses - A clinical case control study. 12 th ESVOT Congress. Department of Veterinary Surgery, School of Veterinary Medicine Ludwig-Maximilians-Universidad Munich, Germany. September 10th - 12th.

26. Tania Evans. Veterinary - Tendon Exam.

<http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.michiganhorseports.com/images/veterinary/vet%2520tendon/2.jpg&imgrefurl>.
Revisada 22/11/2008.