

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**El uso de plasma rico en plaquetas como terapia regenerativa
en tendinitis equina**

POR:

JUAN CARLOS VALDEZ SALAMANCA

MONOGRAFÍA:

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

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN COAHUILA

JUNIO, 2013

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

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**El uso de plasma rico en plaquetas como terapia regenerativa
en tendinitis equina**

MONOGRAFIA POR:

JUAN CARLOS VALDEZ SALAMANCA

ASESOR PRINCIPAL:


M.V.Z. SERGIO ORLANDO YONG WONG

TORREÓN COAHUILA

JUNIO, 2013

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

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**El uso de plasma rico en plaquetas como terapia regenerativa
en tendinitis equina**

MONOGRAFIA POR:

JUAN CARLOS VALDEZ SALAMANCA

ASESOR PRINCIPAL:

Una firma manuscrita en tinta que se extiende sobre una línea horizontal.

M.V.Z. SERGIO ORLANDO YONG WONG

**COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE
CIENCIA ANIMAL:**

Una firma manuscrita en tinta que se extiende sobre una línea horizontal.

M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREON COAHUILA

JUNIO, 2013

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

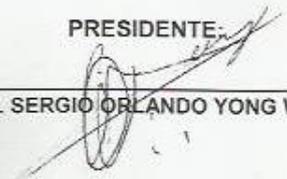
DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**El uso de plasma rico en plaquetas como terapia regenerativa
en tendinitis equina**

**MONOGRAFIA POR:
JUAN CARLOS VALDEZ SALAMANCA**

**QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACION DEL H. JURADO
EXAMINADOR, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TITULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

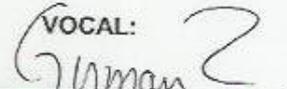
PRESIDENTE:


M.V.Z. SERGIO ORLANDO YONG WONG

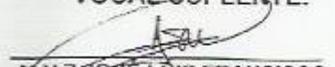
VOCAL:


M.V.Z. FRANCISCO JAVIER
CARRILLO MORALES

VOCAL:


M.V.Z. EDMUNDO GUZMÁN
RAMOS

VOCAL SUPLENTE:


M.V.Z. JOSÉ LUIS FRANCISCO
SANDOVAL ELÍAS

DEDICATORIA

A mi familia por haberme apoyado siempre en mis decisiones en todo momento, y gracias a ellos pude realizarme como persona, por no haberme abandonado en ninguna circunstancia a ellos gracias, que DIOS me los cuide mucho.

Agradecimientos

A Dios por darme la FE para realizar mis sueños.

A mi señor padre el mayor maestro de mi vida, por sus consejos por haberme enseñado a luchar por lo que he querido, por ser un ejemplo a seguir gracias padre.

A mi madre por ser el pilar fundamental en mi vida, por el apoyo que siempre me ha brindado gracias mama.

A mis maestros por regalarnos su sabiduría y experiencia en las aulas y en el campo.

A mis amigos que fueron como una familia en las buenas y las malas durante toda la carrera.

Al M.V.Z. Sergio Orlando Yong Wong por brindarme el apoyo para realizar este trabajo compartiendo su conocimiento y su experiencia.

Al M.V.Z. Eduardo Larios de Alba y su familia por enseñarme la experiencia laboral y sus conocimientos en el mundo de los équidos.

Resumen

El uso de terapias basadas en la aplicación de plasma autólogo, generalmente conocidas como PRP, proporciona una fuente autóloga de factores de crecimiento y otras proteínas biológicamente activas (como el fibrinógeno, fibronectina o vitronectina), derivados de los gránulos alfa de las plaquetas (Anitua et al., 2004).

Estas sustancias autólogas administradas en el foco de lesión tienen la ventaja de encontrarse en equilibrio biológico, y además, al ser autólogas, se eliminan los riesgos potenciales derivados de una reacción inmunológica adversa (Anitua et al., 2004).

Existen numerosos estudios experimentales que han puesto de manifiesto la eficacia de la aplicación de PRP para mejorar los procesos de cicatrización tendinosa. Estos resultados obtenidos sobre modelo experimental se han llevado al escenario clínico con éxito.

Palabras clave: PRP, tendinitis, factores de crecimiento, terapia regenerativa

INDICE

Lista de abreviaturas.....	10
Lista de figuras y cuadros.....	10
Introducción.....	11
I.- Estructura tendinosa.....	12
II.- Estructuras asociadas con os tendones.....	13
III.- Fisiopatología de los tendones.....	14
IV.-Cicatrización del tendón.....	16
V.-Fases de curación del tendón.....	17
5.1.- Fase aguda o inflamatoria.....	17
5.2.- Fase sub aguda o reparadora.....	18
5.3.-Fase crónica o remodeladora.....	19
VI.-La concentración de plaquetas.....	20
VII.-Factores de crecimiento.....	21
VIII.-Correlación entre plaquetas, factores de crecimiento Y regeneración tisular.....	24
IX.-Fase ideal para la aplicación de PRP.....	25

X.-Plasma rico en plaquetas.....	25
XI.- Obtención de PRP.....	27
XII.-Conclusiones.....	30
XIII.-LITERATURA CITADA.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS

DDFT.....Tendón Flexor Digital Profundo

FCs.....Factores de Crecimiento

IGF-1.....Insulin like Growth Factor- I

MEC.....Matriz Extra Celular

PDGF.....Platelet Derived Growth Factor

PRP..... Plasma Rico en Plaquetas

Rpm.....Revoluciones Por Minuto

SDFT.....Tendón Flexor Digital Superficial

TKR.....*Receptores Tirosina-Kinasa*

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

FIGURA 1.....	13
FIGURA 2.....	14
FIGURA 3.....	20
FIGURA 4.....	29
CUADRO 1.....	23

INTRODUCCIÓN

La tendinitis es considerada como una de las enfermedades más frecuentes que afecta a los tejidos blandos. Esta condición puede generarse en caballos de todas las disciplinas, lo que resulta en pérdidas económicas significativas para la industria equina. (Urrea 2012).

El tendón representa el elemento de transmisión de las fuerzas mecánicas del musculo al hueso. Si bien la comprensión global de un movimiento es relativamente simple, existe un equilibrio mecánico y armonioso entre el movimiento de flexión y extensión.(Conde 20013)

Con el aumento en las actividades deportivas, las lesiones de las partes blandas están desempeñando un papel cada vez más importante en la práctica clínica. (Conde 2013). La cicatrización de estas lesiones está dirigida por una sucesión de complejos mecanismos celulares y moleculares. Muchas células están involucradas en este proceso. Estas producen y son sensibles a una infinidad de moléculas (por ejemplo: citosinas, factores de crecimiento (FCs) y eicosanoides entre otros) que permiten, en condiciones fisiológicas, la reparación o incluso la regeneración de los tejidos lesionados (Carmona 2001).

Actualmente, una variedad de múltiples tratamientos que han sido propuestos no han logrado una funcionalidad completa del mismo. La medicina regenerativa ofrece la perspectiva de restituir la estructura y función normal o casi normal del tendón lesionado. El uso de plasma rico en plaquetas (PRP) ha sido considerado por su naturaleza, aparente efecto biológico y poca reacción local.(Urrea 2012)

I.- ESTRUCTURA TENDINOSA

Un tendón es una banda densa de tejido conectivo fibroso que actúa como un intermediario para la inserción del músculo al hueso (Stashak 2003). Morfológicamente, el tendón es una estructura compleja formada por fibrillas de colágeno envueltas por una matriz de proteoglicanos asociados a una relativa escases de células. Los fibroblastos, el tipo celular predominante, están distribuidos en filas paralelas largas en los espacios entre los haces de colágeno (Conde 20013). La unidad básica de la estructura del tendón, el manojito primario del tendón, puede definirse como un manojito de fibrillas de colágeno localizadas entre la fila de fibroblastos y rodeadas por sus procesos anastomosantes.

Estos manojitos primarios se agrupan en manojitos secundarios o fascículos y estos a su vez se agrupan en grandes manojitos tendinosos terciarios. Las fibrillas colágenas presentes dentro de un manojito primario están ordenadas de forma paralela pero siguen un curso helicoidal a lo largo de los tendones. (Stashak 2003)

Las fibrillas colágenas son las unidades fundamentales de resistencia tensora en el tendón y son estructuras cilíndricas compuestas principalmente por moléculas de colágeno tipo I en un ordenamiento específico axial y lateral. Las fibras colágenas son unidades submicroscópicas que tienen, al menos, varios milímetros de largo. Se ha mencionado que la resistencia de las fibrillas de colágeno se determina por los cruzamientos intermoleculares entre las moléculas de colágeno dentro de las fibrillas.

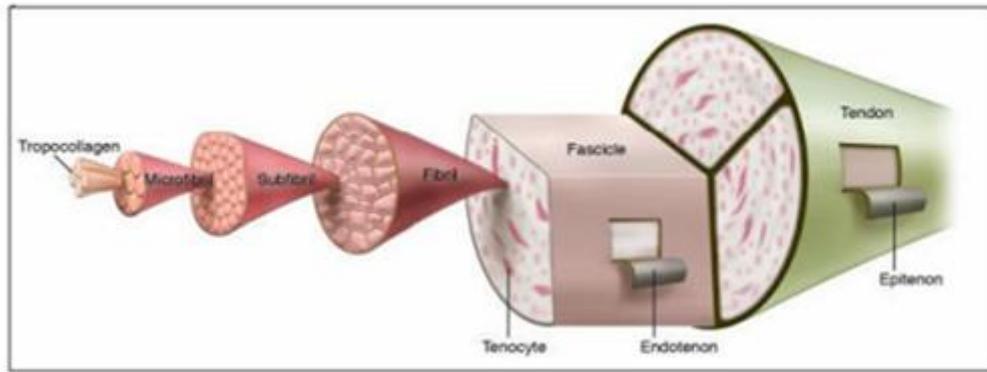


Figura 1. Estructura y composición del tendón.

II.- ESTRUCTURAS ASOCIADAS CON LOS TENDONES

La unión de fibrillas forma los fascículos; estos dentro del tendón se mantienen unidos por tejido conectivo laxo, el endotendón, que permite el movimiento longitudinal de los fascículos y soporta los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. Los tendones están encerrados en una vaina tendinosa que actúa de polea y dirige al tendón, su deslizamiento se facilita por el líquido sinovial que sale de la membrana sinovial parietal de la visceral o epitendón. Los tendones que están encerrados en una vaina se mueven en línea recta y están rodeados por tejido conjuntivo areolar laxo llamado paratendón que se comunica con el tendón (Conde 2013).

Los tendones reciben su aporte sanguíneo de los vasos del perimesio, de la inserción perióstica y del tejido circundante a través de los vasos en el paratendón y mesotendón. Los tendones rodeados de paratendón se llaman tendones vasculares y los que están rodeados por bandas fibrosas, tendones avasculares (conde 2013).

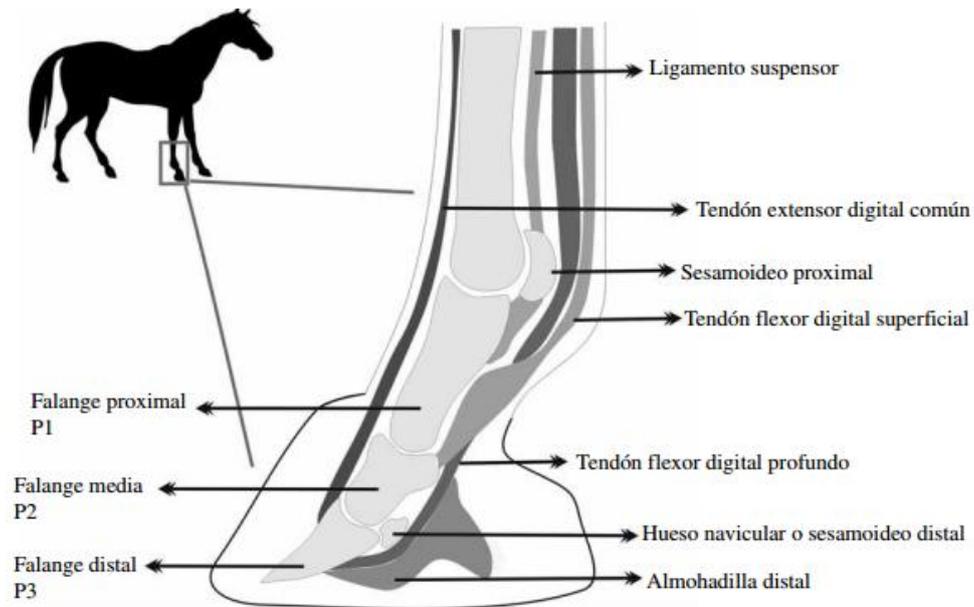


Figura 2. estructura anatómica de los tejidos blandos en el miembro anterior equino

III.- Fisiopatología de las lesiones de los tendones

Los tendones pueden lesionarse bien por “sobreesfuerzo” o como consecuencia de un traumatismo percutáneo, penetrante o lacerante (Abellanet 2009).

Las afecciones pueden ir desde roturas parciales menores a rotura bilateral completa de tendones. El tendón flexor digital superficial (SDFT) de los miembros anteriores son general mente los más afectados. Lesiones similares también pueden ocurrir en los miembros posteriores, aunque en este caso son más frecuentes las lesiones del tendón flexor digital profundo PDFT. (Carmona 2011).

Se cree que las lesiones por sobreesfuerzo se producen como consecuencia de dos posibles situaciones la primera es una sobre carga repentina que excede la capacidad de resistencia biomecánica (Abellanet 2009).

En esta la fase inicial se produce una elongación otorgada por el alineamiento de los fascículos; en una segunda fase de la elongación se basa en la fuerza tensil estructural del tendón; cuando se sobrepasa la resistencia tensil, la elongación continúa en base a la ruptura de los entrecruzamientos covalentes entre las fibrillas que permite un deslizamiento entre ellas; si se sobrepasa este punto se produce la rotura tendinosa (Abellanet 2009).

En las segunda es por una fase de degeneración previa a la lesión, esta se podría considerar como la primera fase de la tendinopatía. Durante esta fase algunos autores hablan de una “inflamación molecular” que no induce un proceso de reparación, si no que va debilitando el tendón de una forma progresiva. Se sospecha que existen varios mecanismos que pueden contribuir a la degeneración del tendón (Abellanet 2009).

Así también están involucrados otros factores de riesgo que intervienen en la tendinitis: la velocidad, el tipo de superficie, el peso que soporta el caballo, la fatiga, el herraje (Carmona 2011).

IV.- CICATRIZACIÓN DEL TENDÓN

El entendimiento de los procesos de cicatrización tendinosa es importante para el manejo de enfermedades de los procesos que afectan al tendón. El daño en el tendón desencadena una serie de señales moleculares que producen el reclutamiento de fibroblastos desde tejidos adyacentes, y estimulan a la población local de tenocitos para la síntesis de colágeno y otros componentes extracelulares que persiguen establecer una continuidad física en el tendón roto (Fernández 2012)

El tejido cicatricial que se produce debe ser sometido a una serie de estímulos mecánicos durante el periodo de cicatrización. Estos estímulos mecánicos son fundamentales durante el proceso de remodelación para obtener un tejido con una correcta funcionalidad aunque el tendón reparado suele ser biomecánicamente de menor calidad que el tendón normal. La falta de uso o movilidad de tendón durante el periodo de reparación conduce a la formación de adherencias. Estas adherencias impiden un correcto deslizamiento del tendón sobre la vaina sinovial o paratendón, y tiene un marcado efecto negativo sobre el resultado funcional final. Sin embargo, una movilización excesiva e inadecuada durante el periodo de reparación puede provocar la ruptura del tendón (James et al., 2008).

Un conocimiento adecuado del proceso normal de cicatrización tendinosa permite desarrollar estrategias para cuando este proceso normal no ocurre de la manera deseada, o bien para acelerar o mejorar el proceso de regeneración tisular (Fernández 2012)

V.- FASES DE CURACIÓN DEL TENDÓN

Se aceptan tres fases (Fase inflamatoria o aguda, fase reparadora o subaguda, fase remodeladora o crónica) (Rodríguez 2012). En dichas fases apreciamos todos los cambios a nivel histológico producidos en la estructura tendinosa (Abellanet 2009).

5.1.-Fase aguda o inflamatoria

Inmediatamente después de la lesión comienza la respuesta inflamatoria a nivel de los capilares y vénulas. Se produce una hemorragia por lo que la respuesta inicial será controlarla formando un coágulo y reduciendo el aporte sanguíneo a la zona (vasoconstricción). Después se producirá una vasodilatación por la acción de la histamina y del sistema complementario.

Lo más importante de esta fase es la presencia de leucocitos (neutrófilos, monocitos y células T); ya que cada uno de estos tiene un papel fundamental en la curación. Clínicamente la inflamación presenta hinchazón, eritema, aumento de la temperatura, dolor y pérdida de la función. Esta fase se produce entre los días 1 y 7.

5.2.-Fase subaguda o reparadora

A los días 5-7 se observa una disminución significativa de los neutrófilos y macrófagos que aparecieron en la fase aguda y, al mismo tiempo, se detecta una importante presencia de fibroblastos (derivados de los tenocitos del tendón, de las células del endotendón y paratendón y de monocitos de origen vascular) responsables de la síntesis de colágeno (tejido cicatricial) que se va poniendo de forma aleatoria.

El nuevo colágeno sintetizado tiene una alta proporción de fibras tipo III en relación al tipo I si lo comparamos con un tendón normal simultáneamente, se detectan unas altas concentraciones de glucosaminoglicanos.

Alrededor del día 15, la concentración de la enzima lisil-oxidasa, producida por células de tipo fibroblasto y responsable del *cross-linking* (entrecruzamiento), empieza a aumentar progresivamente hasta alcanzar un máximo alrededor del día 30 y luego disminuir progresivamente hasta los niveles iniciales alrededor del día 50. Se considera que el efecto de entrecruzamiento de la enzima lisil-oxidasa empieza a ser significativo a los 30 días cuando simultáneamente empieza a detectarse la deposición de colágeno orientado y el incremento de su resistencia tensil. Puede decirse que el periodo de máximo entrecruzamiento del colágeno está comprendido entre los 20 y 50 días.

5.3.-Fase crónica o remodeladora

La remodelación del tejido tendinoso cicatrizado es un proceso lento y de vital importancia para la correcta recuperación del tendón. Su importancia reside en el hecho de que el resultado final debe de ser un tejido cicatricial funcional, cuyas propiedades biomecánicas se asemejen lo más posible al tejido original. Se cree que la fase de remodelación comienza cuando la fase proliferativa alcanza su pico máximo de celularidad (en torno a las 3 – 4 semanas), pero puede empezar incluso antes, tan pronto como 1 ó 2 semanas tras la lesión (Fernández 2012).

La fase de remodelación se caracteriza por un descenso progresivo en la celularidad del tejido de reparación, junto con un alineamiento y organización progresiva de las fibrillas de colágeno en haces. Las fibrillas de colágeno, principalmente las de tipo III, son reabsorbidas por la acción de colagenasas, y reemplazadas por fibras de colágeno de tipo I, que poseen más puentes cruzados y mayor fuerza tensil. Los haces de fibras de colágeno se orientan paralelos al eje longitudinal del tendón (James et al., 2008). Durante esta fase, se produce el cambio desde un tejido de granulación celular, a un tejido principalmente fibroso. Los fibroblastos, con su gran núcleo ovalado, quedan interpuestos entre las fibras de colágeno que ellos mismos producen, y progresivamente su núcleo se va elongando, hasta que adoptan un aspecto similar al de los tenocitos maduros.

La fase final de la remodelación es la fase de maduración. Durante esta fase el tejido cicatricial comienza a adquirir un aspecto histológico más parecido al del tendón sano.

Se produce una disminución gradual en la celularidad, en la vascularización, en la actividad metabólica de los tenocitos, y un incremento en el grosor de los haces de colágeno. La fase de maduración es un proceso largo, que puede durar incluso años. Es importante tener en cuenta que las propiedades biomecánicas de tendón reparado difícilmente alcanzan los valores existentes antes de que ocurriese la lesión (Fernández 2012).

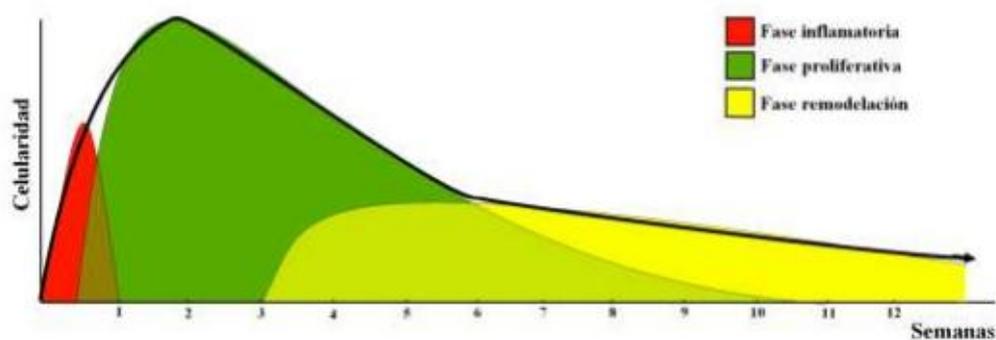


Figura 3. Representación gráfica de las fases del proceso de cicatrización en el tendón, donde a lo largo del tiempo.

VI.-LA CONCENTRACION DE PAQUETAS

Es probable que la concentración de plaquetas aun siendo importante, se haya sobre estimado. Los factores de crecimiento actúan por unión de receptores presentes en la superficie de las membranas celulares y activando cascadas de señales intracelulares (Abellanet 2009)

Una vez que los receptores han sido ocupados por los factores de crecimiento, estos son internalizados por la célula de forma que el estímulo de señal no actúa de forma perpetua, lo que podría conducir a una proliferación celular y crecimiento incontrolados (como en el cáncer). Así pues, una vez que la población de receptores celulares se ha saturado, la adición de más factores de crecimiento no parece tener mucho sentido (Abellanet 2009).

Se desconoce la concentración óptima de plaquetas o de FC que hay que aportar en el tratamiento de las lesiones de los tejidos equinos, pero se sabe que en los tejidos sanos la respuesta a los FC se maximiza cuando la concentración de plaquetas es 4 veces la del plasma normal. Por tanto, no hay un motivo claro para utilizar procedimientos o tecnología por los que se obtiene una concentración de plaquetas superior a 4 veces la concentración basal (Schnabel 2008).

VII.-FACTORES DE CRECIMIENTO

Son citoquinas que ciertamente pueden inducir a la mitosis, pero también a la diferenciación, la secreción de matriz extracelular, la quimiotaxis, la inhibición de una función o incluso la apoptosis.

La función principal de los factores de crecimiento es la del control externo del ciclo celular. Los factores estimulan el aumento del tamaño celular al incrementar la síntesis proteica de las células sobre las que actúan.

En cuanto a su clasificación, los factores de crecimiento se pueden clasificar según sea su especificidad: amplia o reducida. Los de especificidad amplia como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) actúan sobre muchas clases de células, entre las cuales tenemos: fibroblastos, fibras musculares y células epiteliales y no epiteliales. Como ejemplo de factor de crecimiento de especificidad reducida tenemos a la eritropoyetina, que solo induce la proliferación de los precursores de los hematíes (cuadro 1).

Cuadro 1. Algunos factores de crecimiento y quimosinas contenidos en gránulos α

Factor de crecimiento/Quimiocinas y sus formas biológicas y receptores	Efectos biológicos durante la cicatrización de las heridas	Referencias
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). PDGF-AA, -BB, -AB, -CC y -DD. Dos receptores (PDGFRs): α y β	Este es un quimiotáctico e inductor de proliferación celular. Estimula la angiogénesis y promueve la expresión de las metaloproteínas de matriz (MMP)-1 y su inhibidor tisular (TIMP-1) en la última fase de la remodelación. Los productos de la proliferación de fibroblastos, migración epitelial, vascularización extensiva y la infiltración de neutrófilos.	Nimmi 1997, Reigstad y col 2005, Theoret 2005
Factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). TGF- β 1, - β 2, - β 3. Cinco receptores (T β Rs). T β RI y T β RII son los más importantes	Regula la expresión de colágenos y fibronectina. Restringe la degradación de la matriz extracelular (ECM). Disminuye la expresión de las MMPs, promueve la síntesis de TIMPs y del factor de crecimiento de fibroblastos y la producción de angiogénesis. TGF- β 3 tiene efectos antifibróticos. Interacción con T β RI produce proliferación celular y con T β RII síntesis de ECM.	Braun y col 2002, Todorovic y col 2005, Huang y Huang 2005
Factor de crecimiento epidérmico (EGF). Un receptor EGF (EGFR)	Induce la proliferación celular, diferenciación y motilidad. Es altamente expresado en el margen de las heridas, promueve la reepitelización. EGF induce la expresión de MMP-1 y regula el cambio de colágeno tipo I.	Nimmi 1997, Calvin 1998
Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). VEGF-B, -C, -D y dos proteínas VEGF. Dos receptores: VEGFR-1 y R-2	Promueve la vascularización de los tejidos lesionados y facilita el arribo de células inflamatorias y reparadoras. Tiene efectos sobre la proliferación de células del endotelio vascular.	Nimmi 1997, Ferrara 2001, Braun y col 2002, Theoret 2005
Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). FGF-1, -2, -4, -7, -9, -10 y -19.	FGF-1 (FGF básico) es una potente proteína angiogénica y controla los depósitos de ECM, puesto que inhibe la síntesis del colágeno tipo I.	Nimmi 1997, Braun y col 2002, Theoret 2005
Factor de crecimiento insulínico (IGF). IGF-I y IGF II. Dos receptores: IGF-I-R y -II-R	IGF es un péptido anabólico. Produce proliferación celular y depósito de ECM.	Harridge 2003, Frisbie y col 2000
Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). Proteína de unión HGF (HGF-BP)	Este péptido tiene efectos angiogénicos, puesto que incrementa la expresión de VEGF.	Catlow 2003, Anitua y col 2005
Factor plaquetario 4 (PF-4). Condroitin sulfato (receptor)	Produce quimiotaxis de leucocitos y la adhesión de neutrófilos a las células endoteliales. Es un péptido antiangiogénico, puesto que interactúa directamente con FGF o VEGF mediante el bloqueo de sus receptores de superficie celular. Inhibe la apoptosis de monocitos e induce la diferenciación de estas células a macrófagos.	Mannaioni y col 1997, Boehlen y Clemetson 2001
Betatromboglobulina (β -TG). Tres péptidos relacionados	Estas quimiocinas producen quimiotaxis de neutrófilos y degranulación plaquetaria. En el último estado de inflamación, β -TGs desensibilizan la degranulación de neutrófilos y actúan como proteínas antiinflamatorias.	Mannaioni y col 1997, Boehlen y Clemetson 2001

Los factores de crecimiento actúan de manera local. La estimulación celular se realiza bien por sistema autocrino en el que las células producen y responden al mediador biológico, o por un sistema paracrino en el que la célula que produce el factor se encuentra en las proximidades de las células que afecta.

En general los factores de crecimiento son sintetizados en forma de precursores, siendo necesario para la liberación del factor en forma activa un proceso específico de proteólisis. Su mecanismo de acción siempre comienza al unirse a receptores específicos de la membrana. Para cada tipo de factor de crecimiento existe un receptor o conjunto de receptores específicos. El proceso está mediado por un sistema de segundos mediadores mensajeros que activan una cascada de señales que acaba en la activación de uno o varios genes.

Entre los tipos celulares productores de los factores de crecimiento están los fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales, leucocitos, monocitos y macrófagos. Además existen lugares de almacenamiento, como son las plaquetas (en los gránulos α) y el hueso (adheridos a la matriz ósea).

VIII.-CORRELACION ENTRE PLAQUETAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y REPARACION TISUAR.

Existe una correlación positiva entre la concentración de plaquetas y la concentración de factores de crecimiento. Además, las concentraciones de factores de crecimiento están relacionadas con la expresión de los genes responsables de la síntesis de la matriz extra celular (MEC). Entre otras palabras, si las concentraciones de plaquetas son altas, hay más factores de crecimiento y más síntesis de proteínas de la matriz extra celular, tales como el colágeno (Molloy 2003)

IX.-FASE IDEAL PARA LA APLICACIÓN DE PRP

Por todo ello, se admite que la segunda fase sería la más apropiada para este tipo de tratamiento regenerativo, ya que existe oportunidades para intervenir en la reorganización estructural de la lesión, lo que en términos de tiempo comprendería entre los primeros 5-7 días y unos dos meses (Abellanet 2009).

Por ejemplo, algunos autores sugieren la administración de IGF-1 durante las dos primeras semanas, ya que los niveles de IGF-1 en la lesión no empiezan a aumentar hasta la 4ta semana (Dahlgren et al., 2006). También existe bastante consenso para no utilizar el PRP durante los primeros 10 -15 días de la lesión ya que la hemorragia inicial que acompaña a la lesión aún está presente (sutter et al., 2004).

X.-PLASMA RICO EN PAQUETAS (PRP)

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se define como la porción de la fracción de plasma de sangre autóloga que tiene una concentración de plaquetas superior al valor basal.(Schwartz et. al. 2011) (4 a 6 veces sus valores normales). (Carrillo et. al. 2013)teniendo en cuenta que el valor normal es de $158-165 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Carmona 2008). Además de las plaquetas, contiene algunos eritrocitos, leucocitos, células mesénquimales circulantes y varias proteínas séricas, como el fibrinógeno, fibrina, fibronectina, vitronectina y trombospodina, que intervienen en el proceso de curación. Sin embargo el componente que motiva más interés son los factores de crecimiento. (Abellanet 2009). Las plaquetas contienen grandes cantidades de factores de crecimiento que tienen un papel trascendental en el proceso de cicatrización como el factor de crecimiento derivado de plaquetas.

El plasma rico en plaquetas está emergiendo como un método económico para obtener y administrar factores de crecimiento (FC) autólogos. Durante los últimos años ha habido un creciente interés en el uso de PRP y otras terapias biológicas (Abellanet 2009). El PRP se viene utilizando desde antiguo como coagulante-sellante o compactador de injertos en múltiples procesos de todas las especialidades quirúrgicas. (Orozco 2007)

El precursor histórico del PRP fue el adhesivo de fibrina. Se obtenía mezclando dos componentes en el momento de su utilización: fibrinógeno plasmático de origen homólogo y trombina bovina. Presentaba grandes ventajas: hemostasia perfecta, sellado en minutos y fácil reabsorción, por esto adquirió gran importancia como agente hemostático, para controlar el sangrado y evitar transfusiones (Orozco 2007).

En la actualidad el PRP se ha utilizado para el tratamiento de heridas, queratitis, cirugía maxilofacial, plástica y ortopédica y sus aplicaciones siguen incrementándose. En medicina equina su utilización principal se encuentra en problemas ortopédicos tales como el tratamiento de lesiones de tejidos blandos y articulaciones (Abellanet 2009).

Las plaquetas contienen una serie de factores de crecimiento dentro de sus gránulos- α que son liberados tras la activación. (Rendu 2001). Algunos de estos factores de crecimiento de interés en el tratamiento de lesiones tisulares como la tendinitis son el PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas),

que tiene un papel quimiotáctico y estimulante de la proliferación de fibroblastos y de la síntesis de colágeno; el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), un potente estimulante de la angiogénesis; el TGF β 1 (factor de crecimiento transformante β 1), que incrementa la viabilidad celular y estimula la producción de colágeno; y otros como el FGF (factor de crecimiento de fibroblastos), PDEGF (factor de crecimiento epidérmico derivado de plaquetas) y el IGF (factor de crecimiento *insulina-like*) (DE Mos et al., 2008). Estos factores de crecimiento no solo aceleran el proceso de cicatrización tisular, sino que además mejoran la calidad del mismo.

XI.-OBTENCIÓN DE PRP

El uso de concentrados de plaquetas (PC) como un terapia utilizada en la fase de curación, se centra en la determinación, tanto, la población celular (Principalmente las plaquetas, los glóbulos blancos (GB), y las células rojas de la sangre (glóbulos rojos)) y los niveles de factores de crecimiento (Argüelles 2006; Textor 2011). Estas concentraciones pueden variar ampliamente entre sistemas de preparación con el fin de obtener el PRP. Los resultados pueden variar entre las técnicas de separación, la centrifugación, el tipo de anticoagulante y la forma de activarlo (Textor 2011).

El PRP se puede obtener por métodos automatizados (aféresis), semiautomatizados o manuales, mediante la centrifugación doble en tubo (Carmona 2009). Los tres métodos para la obtención de plasma rico en plaquetas usados en humanos han sido validados en caballos.

El sistema de aféresis requiere alta tecnología, personal experimentado y un alto volumen de sangre (□ 450 ml) (Weibrich et al 20002) sin embargo, se presenta un bajo riesgo de contaminación bacteriana durante su preparación.

Los sistemas semiautomatizados permiten concentrar un elevado número de plaquetas y factores de crecimiento en comparación con las otras dos técnicas (zimmermann 2001) y además el riesgo de contaminación bacteriana es menor (Vasconcelos 2003) que con el método manual (tubo).

Sin embargo, estos dispositivos también concentran un elevado número de leucocitos y son costosos. Dentro de os sistemas manuales el sistema descrito por Antinua es de los más empleados en nuestro medio. El producto obtenido mediante su protocolo de centrifugación se denomina PRGF (Preparation Rich in Growth Factors).

El protocolo incluye la extracción de sangre de una vía mediante venopunción de la yugular (izquierda o derecha) depositándola en tubos estériles con citrato de sodio al 3.8% el número de tubos recolectados va a depender de tamaño de la lesión, posterior centrifugación, estos tubos son centrifugados a 300 g durante 10 minutos, durante 8 minutos a 1800 rpm (la conversión de las unidades de aceleración (g) en revoluciones por minuto (rpm) debe hacerse considerando las instrucciones del fabricante de la centrifuga que se vaya a emplear).

Posteriormente se realiza un pipeteado selectivo de la fase plasmática del tubo obteniéndose la parte más próxima a la fase sanguínea pero sin llegar a extraer ni esta ni la fase blanca de leucocitos situada entre ambas. Según estos autores el tercio más próximo a la fase roja es el más rico en plaquetas y en factores de crecimiento (Fernández 2009).

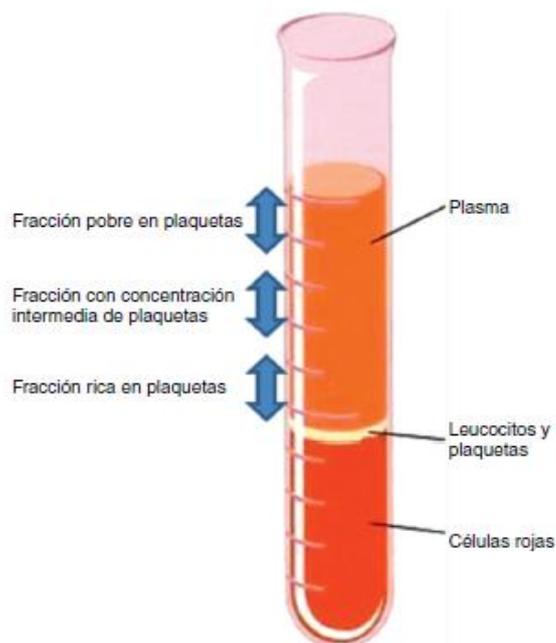


Figura 4.Fracciones de plasma después de la centrifugación.

Una vez obtenido el plasma debe ser activado con Cloruro de Calcio al 10%, en una proporción de 50 μ L de Cloruro de Calcio por cada 1ml de PRP obtenido.

Que va a estimular la liberación de los factores de crecimiento de los gránulos α plaquetarios. La activación de PRP se debe llevar a cabo en el momento de su administración, ya que además de estimular la liberación de factores de crecimiento plaquetarios, va a favorecer la agregación de plaquetas, por lo que en unos minutos se va a formar un coagulo que va a dificultar la inyección (Fernández 2009)

XII.-CONCLUSIONES

Según hemos podido ir viendo a lo largo de esta sección de la revisión bibliográfica, las aplicaciones de PRP pueden resultar de utilidad para el manejo de lesiones tendinosas. Dentro de las ventajas que potencialmente pueden proporcionar a los pacientes afectados de problemas tendinosos cabría destacar que proporcionan una recuperación más rápida y una mejor funcionalidad del tendón tras el tratamiento (Taylor et al., 2011). Para los deportistas, estos beneficios pueden permitirles una vuelta más rápida al entrenamiento y a la competición, una mejoría inmediata del rendimiento tras la lesión y la posibilidad de reducir el tiempo de baja (Abellanet 2009)

Sin embargo, a pesar de estos beneficios potenciales que han puesto de manifiesto algunos estudios clínicos, las aplicaciones del PRP para el tratamiento de lesiones tendinosas aún se encuentra en pleno proceso de estudio, y buena parte de los efectos positivos sobre la cicatrización del tendón están débilmente apoyados por los estudios existentes.

Resulta imprescindible que se lleven a cabo estudios clínicos con un diseño experimental sólido que evalúen de una manera concluyente el efecto que estas terapias tan prometedoras tienen sobre los procesos de curación de las diferentes patologías del tendón, tanto agudas como crónicas o degenerativas (Abellanet 2009)

XIII.-LITERATURA CITADA

Abellanet I. Olesa la terapia de lesiones de tejidos blandos y articulaciones con plasma rico en plaquetas en caballos de deporte: evidencias clínicas y bioquímicas que validan su utilización. Tesis. Universidad de Barcelona 2009

Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. Shedding light in the controversial terminology for platelet rich products. *J Biomed Mater Res Part A*. 2009a; 90a: 1262-1263

Antinua E, Sanchez M, Orive G. Potential of endogenous regenerative technology for in situ regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62(7-8):741-52.

Arguelles D.; Carmona JU; Pastor J. et al. Evaluación de tubo de centrifugado simple y doble métodos para concentrar plaquetas equinas. *Investigación en Ciencias Vet*, V.81, p.237-245, 2006.

Carmona JU, López C, Giraldo CE. Uso de concentrados autólogos de plaquetas como terapia regenerativa de enfermedades crónicas del aparato musculoesquelético equino. *Arch. Vet. MED.* 43,1-10 (2011).

Carrillo P, González A, Macías SI, Pineda C. Plasma rico en plaquetas. Herramienta versátil de la medicina regenerativa?. *CirCir* 2013; 81:74-82.

Conde M, j. Enríquez E. Jiménez D. Ruiz Hazañas S. Afecciones inflamatorias de los tendones y sus vainas sinoviales. <http://www.dgbiblio.unam.mx/servicios/dgb/publicdgb/bole/fulltext/voll12/bautista.html> [consulta: 12 May 2013]

Dahlgren LA, Mohamed HO, Nixon AJ. Expression of Insulin-Like Growth factor Binding Proteins in Healing Tendon Lesions. *J Orthop Res* 2006 Feb; 24(2):183-92.

DE Mos M, Van der Windt AE, Jahr H, Van Schie HTM, Weinans H, Verhaar JAN, Van Osch GJVM (2008) Can Platelet-Rich Plasma Enhance Tendon Repair? A Cell Culture Study. *Amer. J. Sports Med.* 36: 1171-1178

Fernández A, Varela M, Santiago I. Platelet growth factors in the treatment of tendonitis sdft in a race horse. RCCV vo.3 (2). 2009

Fernández JA, Evaluación de la reparación tendinosa tras la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento en un modelo experimental de rotura de tendón de aquiles en oveja. Tesis, Universidad de Córdoba 2012pp 447:37-39.

James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra AB. Tendon: Biology, biomechanics, repair, growth factors, and evolving treatment options. J Hand Surg Am. 2008; 33a: 102-112.

Urrea A M, Regenerative medicine with platelet rich plasma: a therapy for tendonitis in equines. vet.zootec. 6(1): 79-86, 2012.

Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. Platelets 2001;12:261-73.

Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of grow factor in tendon and ligament healing. SportsMed 2003;33(5):381-94

Orozco L. Nuevas aplicaciones clínicas del plasma rico en plaquetas en patologías musculoesqueléticas. En: Células madre: del laboratorio a la aplicación clínica. México: Universidad Nacional Autónoma de México (en prensa)(2007);16:2

Rodríguez J, Palomar MA, García J. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. Rev. Esp. Cir.Maxilofac. 2012;34(1):8-17.

Schwartz,A. Martínez-Sánchez,G. Re, L.(2011).Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador. Revista Española de Ozonoterapia. Vol.1, nº 1, pp. 54-73.

Stashak, TS Adamas: Claudicaciones en Equinos. .5ta ed, Inter-Medica. 2003

Sutter WW, KanepsAj, Bertone AL. Comparison of hemtologic values and transforming grow factor- β and insulin-like growth factor concentrations in platelets concentrates obtained by use of buffy coat and apheresis methods from equine blood. Am J Vet Res 2004;65;924-930

Taylor DW, Petrera M, Hendry M, Theodoropoulos JS. A Systematic Review of the Use of Platelet-Rich Plasma in Sports Medicine as a New Treatment for Tendon and Ligament Injuries.Clin J Sport Med. 2011; 21: 344-352.

Textor, JA; Norris, JW; Tablin, F. Efectos de la método de preparación, la fuerza de corte, y la exposición al colágeno en la liberación de factores de crecimiento a partir plasma rico en plaquetas equina. Am J. Vet. Res.,. v.72, n.2, p.271-278, 2011