

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

USO DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN EQUINOS

por

OVIEDO PECULIO Wilmar Daniel



TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

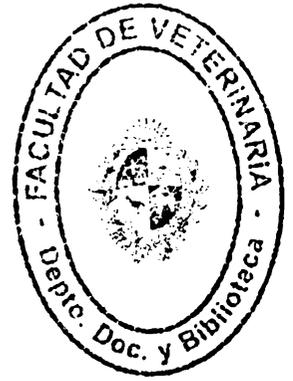
MODALIDAD: Revisión bibliográfica

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2012**



FV-29574

PÁGINA DE APROBACIÓN

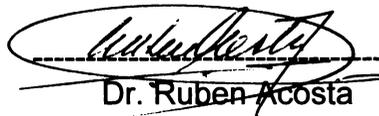


Presidente de mesa



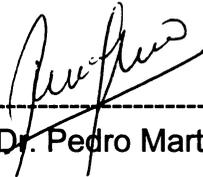
Dr. Jorge Carluccio

Segundo integrante (Tutor)



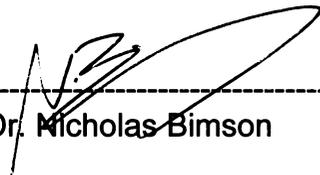
Dr. Ruben Acosta

Tercer integrante



Dr. Pedro Martino

Cuarto integrante (Co-tutor)



Dr. Nicholas Bimson

Fecha:

12 de junio del 2012

Autor



Br. Wilmar Oviedo

AGRADECIMIENTOS

- Al tutor Dr. Ruben Acosta y co-tutor Dr. Nicholas Bimson, por la ayuda y los conocimientos aportados.
- A mi familia por el apoyo y guía constante en todos estos años.
- A Cintia, por todo.
- A los amigos y compañeros.
- A todos aquellos que de una manera u otra estuvieron cerca apoyándome en este proceso.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	5
1. RESUMEN	6
2. SUMMARY	6
3. INTRODUCCIÓN	7
4. TENDONES Y LIGAMENTOS	8
a. Estructura	8
b. Componentes celulares	9
c. Componentes moleculares	10
d. Irrigación	11
e. Biomecánica	11
f. Anatomía	12
5. FISIOPATOLOGIA DE LESIONES EN TENDONES Y LIGAMENTOS	13
6. TENDINITIS DE LOS FLEXORES, DESMITIS DEL LIGAMENTO SUSPENSOR Y DEL LIGAMENTO ACCESORIO DEL TENDON FLEXOR PROFUNDO.....	16
7. DIAGNÓSTICO	18
a. Diagnóstico clínico.....	18
b. Diagnóstico ultrasonográfico	18
c. Marcadores moleculares	20
d. Incidencia.....	21
8. TRATAMIENTO.....	23
a. Tratamiento clínico	23
b. Ondas de choque, ultrasonido, laser, campo magnético.....	25
c. Cauterización.....	25
d. Tratamiento farmacológico	26
e. Tratamiento intralesional	27
f. Tratamiento quirúrgico.....	28
g. Tratamiento regenerativo.....	30
9. PLAQUETAS Y FACTORES DE CRECIMIENTO.....	31
10. PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP).....	34
11. CONCLUSIÓN.....	42
12. BIBLIOGRAFÍA.....	43

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro	Página
1. Programa ejercicios controlados.....	22
2. Fuente y función de algunos factores de crecimiento presente en Plasma Rico en Plaquetas.....	33

Figura

1. Jerarquía estructural del tendón.....	8
2. Ultrasonografía TFDS y LS.....	19
3. Ultrasonografía desmitis LS.....	20
4. Esquema de las vías de la cicloxigenasa y lipoxienasa.....	27
5. Micrografía de una plaqueta equina normal y una activada.....	32
6. Administración intralesional de PRP en el TFD.....	40
7. Aplicación intralesional de PRP en fistula seno-cutánea en una yegua con translocación de un colgajo de piel y periostio.....	40

1. RESUMEN

Las lesiones musculoesqueléticas son causa frecuente de claudicación en equinos. Un porcentaje muy importante de las claudicaciones de los caballos deportivos está dado por lesiones en tendones y ligamentos. Los tratamientos tradicionales de estas lesiones requieren entre 6 y 18 meses de rehabilitación sin obtener un 100% de tejido funcional, obteniendo como resultado un tejido cicatrizal que difiere en la composición con el original, siendo este de menor calidad presentando una mayor cantidad de colágeno tipo III. Es por esto que existe una constante búsqueda de tratamientos más allá de los tradicionales para las lesiones de estas estructuras.

La preparación y utilización del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) como una importante fuente de factores de crecimiento ha tenido una importancia invaluable en la clínica equina. Ya que estos factores favorecen el tipo de tejido cicatrizal.

De los datos recabados se encontró que el PRP junto con ejercicios controlados posteriores a la aplicación se perfila como un buen tratamiento regenerativo para lesiones agudas de tendones y ligamentos.

2. SUMMARY

Musculoskeletal injuries are a common cause of lameness in horses. A significant percentage of lameness in performance horses is given by injuries to tendon and ligaments. Traditional treatment of these injuries require between 6 and 18 months of rehabilitation without obtaining a 100% functional tissue, resulting in scar tissue that differs in composition to the original and this lower quality with a higher amount of collagen type III. Because of these factors continued research for new treatment techniques for tendon and ligament injuries.

The preparation and use of Platelet Rich Plasma (PRP) as an important source of growth factors had an invaluable importance in the equine clinic. These factors improve the type of scar tissue.

From the data collected was found that the PRP along with controlled exercise after the application is seen as a good regenerative treatment for acute injuries to tendon and ligaments.

3. INTRODUCCIÓN

La intensificación en la utilización de los equinos para diferentes actividades trae aparejado un aumento de las afecciones en esta especie, particularmente del aparato locomotor, existen factores que predisponen a lesiones en dicho aparato como son la utilización de animales inmaduros que comienzan con el entrenamiento, el tipo de suelo en el que practican las diferentes actividades, entre otros. Las lesiones de los tendones de los músculos flexores son patologías frecuentes y desalentadoras por perjuicios económicos debido a que requieren de altos costos en el tratamiento, por suspensión del entrenamiento y competiciones por largos periodos de tiempo y en algunos casos por la incapacidad de retomar la actividad física. En los caballos de carrera aproximadamente el 30% de las claudicaciones son debidas a lesiones en tendones y ligamentos. Los tratamientos tradicionales se basan en el periodo de reparación del tejido que requieren de 12 a 18 meses de rehabilitación para la completa cicatrización de la lesión, que a su vez tienen un alto índice de recidivas que varía entre el 30 al 50% (Kaneps 2008). Debido a estos factores antes mencionados la continúa búsqueda de nuevas técnicas de tratamientos para lesiones tendinosas y ligamentosas. Con la utilización de plasma rico en plaquetas (PRP) como tratamiento se busca disminuir el periodo de cicatrización, mejorar el tipo de colágeno de reparación y disminuir el número de recidivas.

4. TENDONES Y LIGAMENTOS

a. Estructura

Los tendones y ligamentos son órganos complejos construidos en una estructura jerárquica, con una disposición de las subunidades cada vez más pequeñas (Fig.1). En un término amplio los tendones están formados por muchos fascículos; durante el examen macroscópico y microscópico se observa un tamaño decreciente en las subunidades, que son las fibras y finalmente las fibrillas (Goodrich 2011).

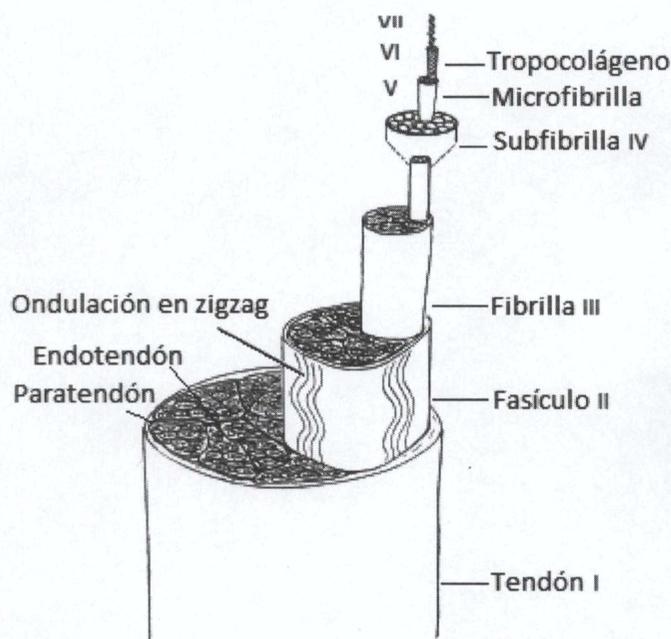


Fig. 1 Jerarquía estructural del tendón. El tendón se compone de subunidades cada vez más pequeñas, a partir de los fascículos visibles a simple vista; a las fibras observadas con microscopia de luz, a las fibrillas individuales de colágeno visto con microscopia electrónica.

- I- Unidad de tendón rodeada por paratendón en lugares extrasinoviales y epitendón en lugares sinoviales.
- II- Fascículo de tercer grado (1 a 3 mm de diámetro).
- III- Fascículo de segundo grado (400 a 1000 μ m de diámetro)
- IV- Fascículo de primer grado (15 a 400 micras de diámetro)
- V- Fibras de colágeno (1 a 200 μ m de diámetro)
- VI- Fibrillas de colágeno (20 a 150 nm de diámetro)
- VII- Colágeno de triple hélice (1 nm de diámetro)

Extraído de Equine Surgery. Auer, J., Stick, J. (2011)

Las estructuras anatómicas que pueden diferenciarse son: paratendón, epitendón, endotendón, fascículos del tendón, fibras y fibrillas. Paratendón se refiere al tejido conectivo y vasos que rodean el tendón. El epitendón está por fuera del fascículo y se continúa con el endotendón, este contiene estructuras vasculares, neurales y contiene un tipo diferente de células, que son más redondeadas, estas se creen que son las fuentes mesenquimales de células madres (pluripotenciales) dentro del tendón. El endotendón contiene niveles más altos de ciertos factores de crecimiento tales como factor transformador β (TGF- β), que el contenido de los fascículos. Los fascículos son paquetes de fibroцитos y tenocitos que son rodeados por el endotendón. Las fibras y fibrillas están constituidas por largos paquetes de filamentos de colágeno predominantemente del tipo I, además contiene elastina y glucosaminoglicanos en la matriz extracelular (MEC). Las fibras más largas son más fuertes que las fibras pequeñas (Smith 2003).

En el tendón relajado, los fascículos tienen una forma de onda que se observa mejor con luz polarizada en un microscopio óptico, con el tendón relajado las fibras de colágeno tienen la característica de presentar un patrón ondulado en forma de espiral (resorte o crimp). Estas fibras agrupadas están ordenadas de forma paralela pero siguen un curso helicoidal como una onda en zigzag a lo largo del eje longitudinal del tendón, siendo denominado rizado (Stashak 2004). El crimp es responsable de la elasticidad del tendón. Una disminución en el crimp se produce con el envejecimiento, junto con una mayor reducción en las fibras centrales. Cuando el tendón es tensado, las fibras centrales se tensan primero, y por lo tanto una mayor carga se coloca sobre estas fibras con respecto a las fibras periféricas. Esto puede explicar la mayor ocurrencia de lesiones en la zona central (lesiones centrales). Las lesiones periféricas son menos claras de explicar (Goordrich 2011).

b. Componentes celulares

Según Sack y col. (1992), las células del tendón son denominadas tenocitos. Los tenocitos son el primer tipo celular que se encuentra dentro del tendón del equino, estos son responsables de la formación y el mantenimiento del tejido tendinoso. Se han descrito tres tipos. Tipo I presentan un núcleo delgado en forma de huso; las células de tipo II tienen núcleo redondeado u oblongo; mientras que las tipo III aparecen como células similares a las células del cartílago con núcleos redondos y nucléolos visibles (Smith 2003). La proporción varía con la edad del equino, el sitio, y si es ligamento o tendón. Las células de tipo I son más frecuentemente encontradas en equinos adultos, las de tipo II se pueden encontrar en mayor número en equinos jóvenes y en ligamentos, y las de tipo III se ubican en áreas que soportan grandes cargas de compresión.

La principal característica de una molécula de colágeno es la estructura larga y rígida de su cadena de triple hélice, en la cual tres cadenas polipeptídicas denominadas de cadena alfa se encuentran enrolladas unas sobre otras formando una estructura semejante a una cuerda torneada (Alberts y col. 2006).

La considerable cohesión existente entre las bandas tendinosas provee gran resistencia de tensión, mientras que el ordenamiento helicoidal y la configuración en zigzag brindan propiedades elásticas (Stashak 1994).

El número de células varía dependiendo de la edad y de la localización dentro del tendón. En un tendón maduro el número es relativamente constante, sin embargo existen áreas en las cuales se encuentran células que han sido reemplazada por una metaplasia condroide, como puede ser el centro del tendón flexor digital superficial (TFDS) o en el tendón flexor digital profundo (TFDP) en la región metacarpofalangiana. Estas áreas a menudo se encuentran rodeadas por células tipo II. Otras células que se reconocen en tendones incluyen células de tipo sinovial del epitendón dentro de la vaina del tendón y fibroblastos del paratendon, epitendón y endotendón. Es probable que estas tengan una función integral en el mantenimiento del tendón debido a ciertos factores de crecimiento como el factor de crecimiento transformador β (TGF- β) que se encuentra en estas áreas (Dahlgren 2006, Dahlgren 2005). Los factores de crecimiento tienen efectos anabólicos en los tendones, los más importantes son TGF- β , factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I). La concentración de estos factores se observan en mayor grado en animales jóvenes, y decrecen a medida que el animal madura. Además, se cree que son deficientes en la curación del tendón (Goodrich 2011).

c. Componentes moleculares

El tendón es una estructura muy hidratada, con un contenido de agua alrededor del 70 %, y el restante 30% (peso seco) es compuesto predominantemente de colágeno tipo I (Avella, Smith 2011), alrededor del 95%, y el restante es colágeno tipo III que está presente en el endotendón y aumenta con la edad. Colágeno tipo II es el principal en cartílagos, solo se puede encontrar en la inserción del tendón y las áreas donde cambia de dirección y adquiere un carácter similar al fibrocartilago (Clegg 2007). El colágeno es sintetizado fuera de la célula como moléculas de procolageno. Como las cadenas α -hélices son producidas y escindidas por procolagenasas son transversales para formar la fibrilla de colágeno (Davis, Smith 2006).

Otras glicoproteínas no colágeno incluyen la matriz proteica de cartilago oligomérico (COMP), proteoglicanos, elastina y trombospondina (Smith 1996). Existe una relación entre la resistencia a la tracción del tendón y el nivel de COMP en la madurez (Goodrich 2011). En las zonas de tensión se pueden ubicar otras proteínas no colágenas como pueden ser los pequeños proteoglicanos (decorina, biglicano, fibromodulina, lumicano, mimicano), mientras que los grandes proteoglicanos (agrecanos y versicanos) se encuentran en zonas de compresión donde el tendón cambia de dirección sobre una prominencia ósea (un ejemplo es el pasaje del TFDP a nivel de la articulación metacarpofalangiana) (Smith, Goodship 2008).

La disposición organizada del tendón, así como las uniones entre las moléculas de colágeno, fibrillas y fibras le confiere la capacidad de soportar elevadas cargas transmitidas desde los músculos a los huesos (Stashak 2004). Los tendones y ligamentos normales están sujetos a finos equilibrios entre procesos anabólicos y catabólicos. Bajo determinadas condiciones de ejercicio, los fibroblastos de los tendones y ligamentos mantienen un equilibrio entre la degradación de la matriz extracelular (MEC) y la síntesis de proteínas reemplazantes. Este equilibrio recae sobre dos grupos de proteínas: las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) y los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs). MMPs son de la familia de las enzimas

proteolíticas que degradan la MEC y facilitan la remodelación, por lo que son esenciales para el mantenimiento y reparación de los tejidos. La actividad de MMPs está controlada por los TIMPs. Sobre este hecho se basan algunas teorías que explican la fisiopatología de las lesiones (Abellanet de Oleza 2009).

d. Irrigación

El aporte sanguíneo de tejido tendinoso puede provenir de cuatro fuentes el musculo o el hueso al cual se encuentra adherido, del mesotendón o vínculo dentro de la vaina sinovial y del paratendón en las porciones que no existe vaina. El musculo y el hueso solo irrigan el 25% proximal y distal del tendón, pudiéndose asumir que el paratendón tiene un papel importante (Stashak 2004).

e. Biomecánica

La elaborada arquitectura anatómica de los tendones está diseñada para permitir la transferencia pasiva desde el musculo al hueso fijado en el lado opuesto de la articulación o articulaciones que les provee movimientos. A la inversa, los ligamentos resisten la distracción entre dos huesos fijados como por ejemplo ligamentos colaterales y ligamento suspensor (Smith 2003).

Los tendones y ligamentos son estructuras similares de tejido blando que realizan funciones relacionadas pero distintas. Como resultado, poseen similar estructura y apariencia histológica con diferencias en la organización celular, bioquímica y características moleculares. Los tendones transfieren las fuerzas generadas por la contracción muscular para el movimiento, también proveen soporte para el esqueleto, e incrementa la eficiencia del aparato locomotor en la liberación de energía. Los tendones se requieren para resistir grandes fuerzas de tensión. Los ligamentos tienen la función de alinear y estabilizar huesos adyacentes y provee resistencia durante el movimiento. Los ligamentos están sometidos a diferentes direcciones de fuerzas dependiendo del grado de movimiento de la articulación (Rumian y col. 2007). Estas diferencias funcionales conducen a diferencias estructurales. Las fibras de colágeno se organizan en el tendón bajo patrones paralelos, mientras que en los ligamentos se organizan mas al azar y con menos enlaces cruzados menos maduros para dar cabida a la carga multiaxial. Los ligamentos contienen un total de colágeno ligeramente inferior con una mayor proporción de colágeno tipo III y un mayor contenido de glucosaminoglicanos (GAG). Los fibroblastos en ligamentos tienden a tener un aspecto más grande histológicamente (Dahlgren 2007).

En equinos los tendones digitales son considerados ejemplos de resistencia, presentando resistencia a la compresión y tensión. Particularmente con relación al Tendón Flexor Digital Superficial (TFDS), se sabe que este proporciona al animal una locomoción eficiente, por presentar propiedades biomecánicas de almacenar energía durante el apoyo y disiparla al final de la pisada (Smith 1998).

f. Anatomía

En el miembro torácico el TFDS tiene origen en el epicondilo medial del humero, y recibe una fuerte lamina fibrosa inserta a la cara caudal del radio, sobre el borde medial de ese hueso (ligamento accesorio del TFDS); en el miembro pélvico se origina de la fosa supracondilar del fémur. Se inserta hacia distal de la articulación metacarpofalangiana/ metatarsofalangiana y próximo a la extremidad distal de la primera falange, el TFDS se divide en dos ramas que se insertan distalmente en la cara palmar/plantar de la primera falange, la inserción de los ligamentos colaterales en una eminencia colateral medial y lateral en el margen proximal palmar/plantar de la segunda falange junto con la inserción de los ligamentos colaterales de la articulación interfalangiana proximal (Sande y col. 1998).

El vientre muscular del TFDP en el miembro torácico tiene tres orígenes el principal es la inserción sobre el epicondilo medial del humero recibiendo las otras dos partes que se insertan en el borde caudal del olecranon y la tercera en el borde caudal del radio, en la región metacarpiana media se inserta el ligamento accesorio distal del TFDP que es una prolongación del ligamento palmar distal del carpo, la inserción en el pie del tendón es en la línea semilunar sobre la superficie solear de la tercera falange. En el miembro pelviano su origen está dado por la unión de dos músculos flexores digitales profundos (lateral y medial), junto con el tendón tibial caudal; hacia la mitad de la región metatarsiana recibe la terminación del ligamento accesorio, más débil que el ligamento accesorio del TFDP del miembro anterior y proveniente del ligamento plantar distal del tarso, hacia distal es similar al miembro torácico (Stashak 2004).

El ligamento suspensor es una banda tendinosa fuerte que contiene una cantidad variable de tejido muscular, siendo el principal sustentador de las articulaciones metacarpo/metatarsofalangiana e interviene limitando la extensión de dichas articulaciones. Tiene su origen en el ligamento palmar del carpo como también en la superficie palmar proximal del tercer metacarpiano descendiendo entre el segundo y el cuarto metacarpianos. Distalmente en el tercio distal del metacarpo se divide en dos ramas que se insertan sobre las superficies abaxiales de los respectivos huesos sesamoideos proximales. Las ramas extensoras descienden en forma dorsodistal uniéndose con el tendón del extensor digital común en la región falangiana proximal. El ligamento suspensor representa desde un punto de vista filogenético, al musculo interóseo mediano o ligamento sesamoideo proximal (superior) (Stashak 2004), conservando algo de tejido muscular primitivo; la proporción de este tejido muscular es distinta según las características biomecánicas que impone la especialidad deportiva o según condicionantes genéticos. Los caballos Standardbreeds tienen un 40 % más de tejido muscular que los SPC (Wilson y col 1991).

Al realizar el diagnóstico ecográfico se debe tener presente que, debido al vestigio muscular, algunas imágenes no ponen de manifiesto lesiones patológicas sino la estructura normal del ligamento. La proporción de tejido muscular suele ser igual en la extremidad opuesta (Avellanet de Oleza 2009).

5. FISIOPATOLOGIA DE LESIONES EN TENDONES Y LIGAMENTOS

Las lesiones en tendones y ligamentos son comunes en equinos, principalmente en los atletas.

Tres tipos de lesiones pueden ocurrir en tendones y ligamentos: esfuerzo excesivo, desgarró físico y lesiones percutáneas. Las lesiones más comunes inducidas por tensión en equinos involucran tejidos blandos de la zona palmar de la región metacarpiana, se cree que las lesiones clínicas son precedidas por una fase de degeneración molecular (inflamación molecular) (Avella, Smith 2011) que induce una reacción inflamatoria clínicamente inaparente, que debilita progresivamente al tendón (Smith y col. 1999).

Cuando los niveles de ejercicio exceden los límites de elasticidad del tejido o cuando la naturaleza repetitiva de cargas crea un daño a la matriz extracelular en una tasa que supera la reparación, el daño se acumula y finalmente se convierte en clínicamente aparente. El daño mecánico puede presentarse como resultado de una única sobrecarga en el que la magnitud de la fuerza aplicada excede la resistencia máxima de las fibras, o del acumulo de microlesiones que llevan a la ruptura de la estructura tendinosa (Alves y col. 2001). El riesgo de lesión inducida por tensión se ve incrementado por factores tales como la velocidad, superficie de la pista, el peso del caballo, el grado de fatiga, y el herrado (Avella, Smith 2011).

El mecanismo para la generación de desgarró de los tendones o ligamentos es poco claro. La localización más frecuente es en el TFDP en el miembro anterior y ocasionalmente en la manica flexora del TFDS en el miembro posterior en la porción proximal de la vaina del tendón flexor digital (Avella, Smith 2011).

Los mecanismos de degeneración del tendón tienen varias etiologías como pueden ser mecánicas, físicas, vasculares e inflamatorias. Las fuerzas mecánicas juegan un rol central, ya sea en la sobreextensión como en fuerzas directas repetitivas de bajo grado que causan fatiga y microlesiones conduciendo a la degeneración. Esto predispone al tendón a una tendinitis clínicamente cuando se le aplica una fuerza aguda supra-maxima. La hipertermia durante el ejercicio es una influencia física que predispone a lesiones del tendón. También el pobre aporte sanguíneo ha creado hipótesis que contribuye al daño en el tendón. Cuando el tendón soporta toda las fuerzas de tensión el flujo de sangre es limitado o abolido por las fuerzas de compresión, predisponiendo a hipoxia y degeneración del tejido (Goodrich 2011). A pesar de esto se ha comprobado que los tenocitos, tendones y ligamentos son más resistentes que otros tejidos a la hipoxia (Birch y col. 1997). Aunque esta resistencia puede existir, de todos modos la producción de radicales libres dentro del tendón durante el ejercicio predisponen al tendón a la degeneración (Smith 2003). Adicionalmente algunos factores como la edad, fármacos y la actividad de mediadores bioquímicos pueden afectar la actividad de los tenocitos (Riley 2005).

Los factores mecánicos, vasculares e hipertérmicos, todos pueden conducir a la liberación de enzimas proteolíticas como por ejemplo colagenasa y agreganasa que promueve la degeneración del tendón. La elevación en estas enzimas proteolíticas resulta en una menor síntesis de matriz y aumento en la degradación, mediante el cual la degradación general es alta (Goodrich 2011). En resumen la degeneración del tendón resulta por muchos factores que

contribuyen anomalías en la matriz y en las células. Las células residentes no pueden reparar las microlesiones, debido a la deficiencia de factores de crecimiento y la incapacidad de mantener la estructura así como la integridad celular dentro del tendón. Como la carga continúa y aumenta el esfuerzo, el fracaso de las fibrillas se produce causando lesión (Goodrich 2011).

Estudios experimentales muestran que la producción de patrones de expresión de genes catabólicos resulta en la degranulación de la MEC y la pérdida de la función (Lavagnino y col. 2006). La teoría se basa en la idea que el daño en el tendón ocurre en áreas focales de sobrecarga mecánica, en las que hay producción de la expresión de genes catabólicos (MMPs) y aumento de la apoptosis (muerte celular programada). El incremento en la expresión de MMP resulta en la degradación de la MEC con la subsecuente pérdida de propiedades del tendón (Egerbacher y col. 2007).

Cuando los tendones y ligamentos sufren lesiones el proceso de reparación sigue tres fases de curación, que se superponen: (1) fase aguda o inflamatoria, (2) fase de proliferación y (3) fase de remodelación. Además existe una fase subclínica de degeneración, sin embargo esta es difícil de detectar clínica o ultrasonográficamente (Goodrich 2011).

La fase aguda comienza inmediatamente después de la injuria hasta las 2 semanas posteriores, dependiendo del grado de severidad de la lesión, y de las medidas antiinflamatorias aplicadas. Esta fase es caracterizada por la hemorragia dentro del tendón con desarrollo de edema, incremento en el flujo sanguíneo, infiltración de leucocitos (inicialmente neutrofilos y luego monocitos y macrófagos), liberación de mediadores inflamatorios, incluidas las enzimas proteolíticas que degradan el colágeno dañado como también parte del sano (Goodrich 2011). El gran número de moléculas liberadas en la fase inflamatoria causa daño en los componentes funcionales del tendón. Como ejemplo se destacan las enzimas de la familia de las MMPs, que son capaces de degradar diferentes tipos de colágeno y otros componentes responsables de la función tendinosa. Estas proteasas son indispensables para la migración de células inflamatorias y la remodelación de la matriz extracelular (Marsolais y Frenette 2005).

La fase inflamatoria es por lo general corta y se superpone con la fase proliferativa que comienza tan pronto como unos pocos días después de las lesiones y pueden finalizar luego de varias semanas o meses. Esta fase está asociada con una pronunciada respuesta de angiogenesis y la infiltración celular fibroblástica (reparación extrínseca). Los monocitos y macrófagos actúan en la fagocitosis de la matriz extracelular dañada y en la liberación de factores vasoactivos y quimiotácticos que inician la angiogenesis, estimulan la proliferación y el reclutamiento celular para la reparación de la injuria. Existe una regulación rápida de la expresión génica de factores de crecimiento y citoquinas que estimularán los posteriores eventos celulares. Los eritrocitos se acumulan en el sitio de la lesión como resultado del daño del endotendón en conjunto con el daño de la matriz extracelular (Dahlgren y col. 2005).

Se cree que los mecanismos de reparación intrínseca (por ejemplo del tendón por sí mismo) son limitados. El resultado que se obtiene es la formación de una cicatriz en el tendón con un tejido de diferente composición, con mayor porcentaje de colágeno tipo III y menor del tipo I (aproximadamente 50 % comparado con 10 % que es lo normal en el tendón), mayor grado de

hidratación y mayor nivel de glucosaminoglicanos (GAGs) (Tsuzaki y'cdl. 2003).

Al igual que la reparación del cartílago, el tejido de cicatrización tendinoso resultante es más débil que el tejido original, y este queda predispuesto a futuras recidivas en el sitio de antigua lesión. Cuando la recidiva ocurre la fase inflamatoria y proliferativa son perpetuadas, fomentando el daño dentro del tendón (Smith 2003).

La fase de remodelación para los tendones y ligamentos es un punto crítico para el retorno a la función atlética. Esta consiste en una baja conversión gradual de colágeno tipo III en tipo I. Este proceso ocurre luego de varios meses (6 a 18) (Dahlgren y col. 2005) y nunca llega a reconstituirse igual que el tejido original. El ejercicio controlado optimiza la conversión de colágeno tipo III en tipo I. Esto mejora el alineamiento de las fibras de colágeno en la dirección de las fuerzas y resultan en una mejor tensión mecánica para el tendón. Los programas de ejercicios controlados deben ser integrados para una exitosa rehabilitación. Es importante la utilización de ultrasonografía para evaluar las modificaciones con los ejercicios y el grado de reparación.

Las recidivas son comunes cuando el tendón se encuentra en esta fase de remodelación, se ha reportado que ocurren desde 8% hasta 43% en caballos de carrera (Dowling y col. 2000). Además, se debe tener en cuenta que es común la afección de los tendones del miembro colateral (Davis, Smith 2006)

El programa de rehabilitación debe ser ideado teniendo en cuenta las fases de reparación del tendón o ligamento junto con la asociación de fuerzas de tensión de los tejidos (Cuadro 1). La reparación en tendones y ligamentos es más lenta comparada con la piel, siendo este un punto crítico para el proceso de rehabilitación.

6. TENDINITIS DE LOS FLEXORES, DESMITIS DEL LIGAMENTO SUSPENSOR Y DEL LIGAMENTO ACCESORIO DEL TENDON FLEXOR PROFUNDO

El termino tendinitis usado de manera correcta se aplica a la inflamación producida por un esfuerzo que afecta un tendón que está rodeado por un paratendon y no por un vaina tendinosa. Si la región del tendón afectado está asociada con una vaina sinovial tendinosa el término a utilizar será el de tendosinovitis. La tenosinovitis implica solo la inflamación de la vaina sinovial tendinosa. La inflamación de un ligamento recibe el nombre de desmitis, y por lo tanto la lesión del ligamento suspensor se denomina desmitis del ligamento suspensor (Stashak 2004).

La tendinitis flexora en general y la tendinitis del flexor digital superficial en particular son causas comunes de claudicaciones en caballos de carreras, así como también en otros caballos de deporte. El TFDS de los miembros anteriores es el lugar afectado con mayor frecuencia de los tejidos blandos distales al carpo, también puede producirse lesiones similares en el TFDP, ligamento suspensor y ligamento accesorio del TFDP. En general las lesiones se localizan en el centro del TFDS a nivel del tercio medio de la región metacarpiana del miembro anterior. En ciertas razas como los Standarbred (trotadores) parecen tener una incidencia más alta de lesiones en el ligamento suspensor y se cree que esta diferencia en el lugar de predilección puede explicarse por el análisis de la distribución funcional de las cargas entre las estructuras flexoras en las diferentes marchas y en asociación con las distintas demandas locomotoras (Stashak 2004). Al galope a medida que el miembro anterior contacta con el suelo, la articulación metacarpofalangiana (nudo) se hiperextiende y los tendones flexores soportan alta carga tensora. Cada especialidad deportiva conlleva un escenario propio donde el caballo, el hombre y el terreno interactúan de forma particular, requiriendo esfuerzos anatómicos específicos y predisponiendo a determinadas lesiones (Avellanet de Oleza 2009).

Se ha demostrado que las magnitudes de los esfuerzos en el TFDS al galope en los Sangre Pura de Carrera (SPC) es alrededor del 16 % (Goodship y col. 1994) (Stashak 2004). En estudios in vitro se ha observado que ejerciendo cargas sobre el TFDS del caballo, hay una región no lineal que representa el estiramiento de las ondulaciones de las fibras de colágeno y un esfuerzo del 3%. A medida que las cargas llevan al tendón mas allá de la región no lineal, el tendón se vuelve más resistente al alargamiento y se observa una relación lineal estrés-esfuerzo hasta un punto en el que se produce la perdida de la relación lineal y es probable que esto se asocie con la falta de deslizamiento de las fibrillas y las unidades de tropocolágeno. Por último falla todo el tendón y se ha informado que esto se produce con un esfuerzo del 12 al 20%. Cuando se compara esto con las magnitudes de esfuerzos registradas al galope de los SPC de alrededor del 16%, el margen de seguridad es muy pequeño, presumiendo que esto es un factor para la incidencia de las lesiones en el TFDS (Stashak 2004). Se supone que el TFDS y el LS son más propensos a las lesiones que el TFDP porque los primeros reciben la carga en el momento de apoyo, mientras que el TFDP interviene algo mas tarde (Avellanet de Oleza 2009). En un estudio se concluyo que en el trote y en el galope la carga ejercida sobre el ligamento suspensor no aumenta con la misma magnitud que

para el TFDS, la presencia de microtrauma indico que este tendón es el que preferencialmente soporta las cargas durante el galope, y debido a que los miembros anteriores participan activamente en proceso de amortiguamiento de las cargas en la locomoción son más comunes las lesiones en los mismos que en miembros posteriores (Patterson-Kane y col. 1998).

Otros estudios in vivo han mostrado que el TFDS soporta la carga en la parte inicial de la fase de apoyo de la marcha antes de que la carga se distribuya dentro del TFDP y la tasa de elevación en carga es mayor en el primero. En un trote extendido el ligamento suspensor sufre preferencialmente cargas en la parte inicial de la fase de apoyo. Tales diferencias respecto a las cargas funcionales pueden explicar la incidencia de lesiones en el TFDS en los SPC y en el ligamento suspensor en los caballos de trote. El pico de carga se produce en el TFDP solo en el estadio final del ciclo de la marcha y la tasa de carga es baja, lo que puede explicar la menor incidencia de lesiones en este tendón (Stashak 2004).

Con respecto al ligamento suspensor se divide en tres partes en razón de sus particularidades anatómicas y de la naturaleza de las lesiones: 1) lesiones restringidas al tercio proximal (desmitis suspensora proximal); 2) lesiones en el tercio medio, extendiéndose algunas veces hacia el tercio proximal (lesiones del cuerpo) y 3) lesiones en las ramas medial y/o lateral (lesiones de rama) (Stashak 2004). Las lesiones de la parte proximal se diagnostican mucho más que en tiempos pasados debido al interés científico que se ha prestado estos últimos años. Esta lesión se presenta en todo tipo de caballos de deporte. El pronóstico de la desmitis de la parte proximal del LS difiere enormemente según se trate de la extremidad anterior o posterior. En las extremidades anteriores, las lesiones agudas tienen un buen pronóstico ya que el 90 % de los casos vuelve a competir siguiendo un tratamiento conservador, las lesiones crónicas con más de tres meses de duración, tienen un pronóstico más incierto. En las extremidades posteriores las lesiones agudas tienen un pronóstico mucho peor, ya que solo el 13% de los casos mantiene el nivel de competición durante 6 meses, las lesiones crónicas tienen un pronóstico aun peor cercano al 0% con tratamientos tradicionales (Abellanet de Oleza 2009).

Las lesiones del cuerpo del LS son menos frecuentes y a veces van acompañadas de lesiones de las partes proximales de las ramas. Suelen observarse en forma aguda en caballos de carreras. El pronóstico para este tipo de lesiones es reservado (Abellanet de Oleza 2009).

Las lesiones de las ramas también son frecuentes en todo tipo de caballos. El balance del casco es un factor importante. El pronóstico es reservado (Abellanet de Oleza 2009).

7. DIAGNÓSTICO

a. Diagnóstico clínico

El diagnóstico clínico de las lesiones en tendones se basa generalmente en la historia (con frecuencia un periodo anterior de ejercicio) y el desarrollo de signos de inflamación (dolor, calor, tumefacción y claudicación) sobre la zona afectada. La claudicación es a menudo grave en las primeras etapas, aunque no siempre es evidente (lesión subclínica), y tiende a estar relacionado con el grado de inflamación y no con el grado de lesión. Del mismo modo, una vez que la fase inflamatoria haya pasado (dentro de 1 o 2 semanas), la claudicación generalmente se resuelve rápidamente (Avella, Smith 2011).

La posición y la función del miembro afectado puede verse alterada dependiendo de la estructura afectada y del grado de la lesión. En caso de tendinitis severa del TFDS el ángulo de la articulación metacarpofalangiana en reposo puede ser normal debido a la acción de las otras estructuras que soportan la articulación (ligamento suspensor y TFDP). Sin embargo cuando la carga aumenta en el miembro (por ejemplo, cuando el miembro colateral se eleva del suelo), el miembro afectado muestra una sobre-extensión de la articulación metacarpofalangiana. Para los casos leves, la palpación cuidadosa de tendones y ligamentos se debe realizar con el miembro en apoyo y en flexión, prestando especial atención a la respuesta al dolor y deformaciones sutiles (Avella, Smith 2011).

El estadio crónico se manifiesta por fibrosis y tumefacción dura sobre la cara palmar o plantar (Avella, Smith 2011).

b. Diagnóstico ultrasonográfico

El examen clínico no puede detectar las lesiones tendinosas más sutiles, y proporciona un bajo grado de valoración de severidad. Debido a que el pronóstico depende de la gravedad de la lesión inicial, es muy importante la evaluación de las lesiones mediante la ultrasonografía, que es considerada el estándar de oro para el monitoreo de las tendinopatías. Esta se puede realizar en cualquier momento después de la lesión, pero el análisis de referencia óptimo para evaluar la gravedad está indicado que se realice aproximadamente una semana luego de la lesión, ya que muchas lesiones se expanden durante los días iniciales. Las maquinas modernas de ultrasonido con transductores de 7.5 a 14 MHz de potencia producen una excelente calidad de imagen de los tendones flexores y del ligamento suspensor, permitiendo una determinación segura de la extensión y la localización de las lesiones (Fig. 2). Los principios generales de la ecografía de las áreas sospechosas incluyen exploraciones longitudinales-lineales y transversales. Se pueden medir tanto el tamaño de los tendones como el de las lesiones (Avella, Smith 2011). La perdida de la intensidad ecográfica normal puede estar causada por la disrupción fibrilar y el proceso inflamatorio (hemorragia, edema e infiltración celular de los estadios iniciales) (Stashak 2004).

Bosh y col. (2011a) concluyeron que el análisis computarizado de imágenes ecográficas es una excelente herramienta para el monitoreo objetivo longitudinal de los efectos de los tratamientos para las lesiones del TFDS en

equinos. En este estudio, se evaluó un método de caracterización ecográfica de los tejidos (UTC), mediante el análisis matemático de las imágenes ecográficas transversales adyacentes, se utilizó para el seguimiento de la trayectoria de curación de las lesiones del tendón.

En equinos, la evaluación ultrasonográfica se debe realizar con el animal en estación, y preferentemente con los cuatro miembros apoyados para que el peso sea distribuido de forma equilibrada entre los miembros pélvicos y torácicos. Ese aspecto es importante ya que el apoyo inadecuado puede modificar el tamaño, la forma y la ecogenicidad de los tendones y ligamentos durante el examen. La realización de tricotomía junto con la utilización de gel como forma de evitar la presencia de aire entre el transductor y la piel son importantes, para no producir interferencias en la transmisión de las ondas sonoras. Durante la evaluación de los tendones deben considerarse cinco variables básicas: tamaño, formato, textura, posición y alineamiento de las fibras. Estas variables son utilizadas para identificar anomalías en los tendones y ligamentos o verificar el estado de reparación. Para la evaluación más organizada de la región metacarpiana se divide en siete zonas tomando como base la distancia entre el carpo y la articulación metacarpofalangiana. Ambos miembros deben ser examinados ya que aproximadamente un tercio de los casos de tendinitis inducida por esfuerzo tiene un componente bilateral, pero afecta más severamente un miembro (Avella y col. 2009).

En condiciones fisiológicas cada estructura posee densidad propia. En este sentido cuanto más denso es el tejido más ecos retornan al transductor y consecuentemente mayor será la ecogenicidad de la imagen proyectada en el monitor. Las ecografías cambian frecuentemente, en la etapa aguda se encuentra engrosamiento de la estructura, cambios en la forma, el margen o la posición observándose focos hipoeicos o zonas generalizada hipoeogénicas en el sector de lesión, también se puede encontrar reducción de patrón estriado longitudinal en las imágenes. Las lesiones crónicas se asocian con el aumento variable de tamaño, así como también en la ecogenicidad observándose focos hiperecogénicos indicando la presencia de tejido cicatrizal (fibrosis) (Avella, Smith 2011).

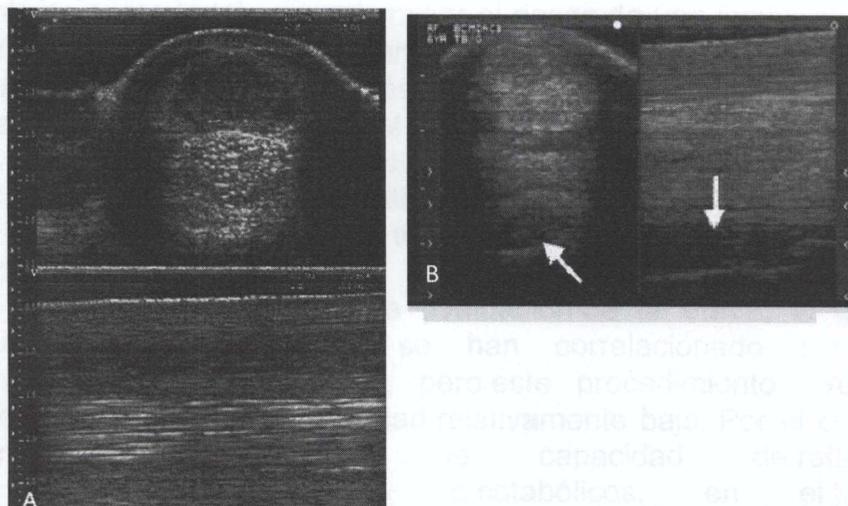


Fig. 2 Ultrasonografía del TFDS y LS. **A**-Lesión aguda del TFDS, manifestándose una reducción de la ecogenicidad (especialmente en el centro), un patrón estriado alterado en la vista longitudinal. **B**- Lesión aguda severa del LS.

Extraído de Equine Surgery. Auer, J., Stick, J.

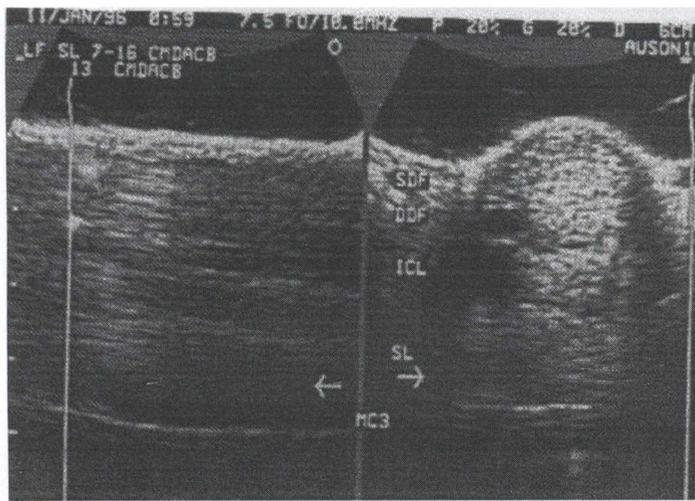


Fig.3 Ultrasonografía de un miembro anterior de un equino SPC de 3 años de edad, donde se puede observar tanto en las imágenes transversales como longitudinales una desmitis significativa del ligamento suspensor (SL) con disrupción de las fibras.

Extraído de Equine Diagnostic Ultrasound. Reef, V. (1998).

c. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares tienen el potencial de contribuir en forma útil en los parámetros para la evaluación de la enfermedad de tendones en equinos. Estos se pueden utilizar para proporcionar un diagnóstico cuando otras pruebas son negativas (rara vez es requerido por primera vez en las lesiones del TFDS, pero puede que ser útil para detectar nuevas lesiones). Además, los marcadores moleculares ofrecen los siguientes beneficios:

- Puede ser útil para el screening como parte de una estrategia de prevención; la detección precoz puede permitir la introducción de medidas (por ejemplo: entrenamiento controlado) para minimizar el riesgo de una lesión que lleve a la finalización de la vida deportiva del animal.
- Puede permitir una evaluación más objetiva de la gravedad de la patología y por lo tanto, ayudan a determinar el pronóstico.
- Pueden proporcionar información sobre la etapa de la enfermedad, optimizando los protocolos de rehabilitación.
- Puede ayudar en la elección del tratamiento y proporcionar una evaluación objetiva de su eficacia.

Hasta la fecha, el diagnóstico y la evaluación de la etapa, la gravedad y pronóstico de la tendinitis equina se han correlacionado con cambios semicuantitativos ultrasonográficos, pero este procedimiento requiere de mucho tiempo y tiene una sensibilidad relativamente baja. Por el contrario, los marcadores moleculares tienen la capacidad de reflejar los procesos específicos, anabólicos o catabólicos, en el tejido de interés. Investigaciones iniciales evaluaron los marcadores que incluyen la síntesis de colágeno I (propéptido carboxiterminal de colágeno tipo I [PICP]) y degradación (telopéptido reticulado carboxiterminal de colágeno tipo I [CIFT]) después de la lesión del tendón. En patologías tendinosas el resultado fue un

aumento significativo en las concentraciones de PICP, mientras que las concentraciones CIFT no eran diferentes de los del grupo control. Estos resultados indican que las concentraciones séricas de PICP sea capaz de reflejar los cambios en la formación de colágeno tipo I en la curación tejido conectivo en un área del cuerpo. Los resultados también sugieren que el PICP no es un marcador totalmente específico del hueso, al igual que en otros tejidos puede aumentar sus concentraciones en suero. (Avella, Smith 2011).

COMP (proteína oligomérica de la matriz del cartílago) también ha sido muy estudiado en las enfermedades tendinosas. Se ha encontrado en estudios que en el líquido sinovial dentro de las vainas tendinosas fue significativamente mayor cuando los tendones se encontraban dañados o cuando dentro de la vaina existía un proceso séptico. Sin embargo, los niveles séricos no se encontraban afectados debido a los niveles altos de COMP en la sangre. Aunque COMP parece ser un buen marcador en el análisis de laboratorio de estas patologías, puede no ser un marcador preciso para la enfermedad específica del tendón (Goodrich 2011).

d. Incidencia

El tendón más comúnmente afectado es el TFDS. Aunque la lesión puede ser focal o generalizada, por lo general se ubican en la zona central del tendón, justo por debajo en el tercio medio de la región metacarpiana del miembro. Puede ser focal o extenderse a lo largo del tendón, dando lugar a una tumefacción en la cara palmar de la región metacarpiana. (Tendón en forma de arco) (Avella, Smith 2011).

La desmitis del ligamento accesorio del TFDP puede ocurrir junto con la tendinitis del flexor superficial. La claudicación generalmente es más leve que lesiones del flexor superficial, la tumefacción por lo general se restringe a la región metacarpiana proximal, inmediatamente dorsal al TFDP (Avella, Smith 2011).

El ligamento suspensor puede sufrir desmitis en cualquier sección (proximal, del cuerpo o de las ramas). La desmitis proximal se produce tanto en los miembros anteriores como en los posteriores y se diagnostica con una combinación de examen clínico, ecografía y radiografías. En los casos agudos puede haber calor localizado en la zona proximal de la región metacarpiana palmar o metatarsiana plantar, y en ocasiones hay una leve tumefacción edematosa en el lugar. La claudicación puede tener un inicio agudo o insidioso y un grado variable. Puede ser grave luego de un ejercicio de velocidad. Por lo general la claudicación de los miembros anteriores mejora a los pocos días de reposo pero recurre cuando se vuelve al trabajo, mientras que la claudicación del miembro posterior suele ser más persistente. La claudicación del miembro anterior se acentúa a menudo, con la marcha en círculo, en especial cuando el miembro que claudica se encuentra en la parte externa del círculo, y también puede aumentar sobre suelos blandos (Stashak 2004).

En la desmitis del cuerpo del LS por lo general la claudicación es menos obvia, pero son más obvios los signos clínicos localizados como calor, dolor y tumefacción en comparación con lo que ocurre con la desmitis suspensora

proximal. La alteración es más frecuente en los miembros anteriores que en los posteriores.

La desmitis de las ramas del LS se produce tanto en miembros anteriores como en los posteriores. El grado de claudicación varía desde no detectable hasta moderado, en ocasiones puede ser grave dependiendo de la extensión de la lesión y de su cronicidad. Las lesiones en las ramas del LS pueden persistir en la evaluación ecográfica durante largo tiempo, de forma tal que la clara identificación del problema actual es difícil sin tener imágenes ecográficas previas para la comparación. Debido a la asociación entre las ramas y la cara distal de los huesos rudimentarios, es necesario realizar radiografías (Stashak 2004).

8. TRATAMIENTO

a. Tratamiento clínico

Algunos tratamientos básicos de la medicina reparadora que se aplica actualmente a los tendones y ligamentos fueron mencionados por Asheim en 1964, que incluía la flebotomía, la aplicación de frío local, el vendaje escayolado y el reposo. Durante las últimas cuatro décadas se han ensayado numerosos tratamientos y poco, si cabe alguno han evidenciado eficacia superior al simple reposo prolongado, y algunos se puede considerar que presentan un efecto deletéreo o perjudicial para la reparación. Sin embargo, los principios básicos descritos por Asheim: utilización de frío, soporte y reposo forman parte del protocolo de manejo. Las lesiones agudas de tendones y ligamentos son emergencias médicas y requieren de un rápido tratamiento apropiado para la reducción rápida de la inflamación, porque la persistencia de la inflamación es responsable de daños posteriores para el tendón (Avella, Smith 2011).

La escasa eficacia de estos tratamientos se explica por la fisiología de la reparación de tendones: el tejido cicatrizal resultante carece de propiedades funcionales del tendón original (Davis, Smith 2006).

En la fase aguda de inflamación de la lesión del tendón, la hidroterapia fría es un aspecto importante en el tratamiento teniendo efectos: antiinflamatorio y analgésico en gran parte gracias a su capacidad para incrementar la vasoconstricción, disminuir la actividad enzimática, reducción de la formación de mediadores inflamatorios, y retardar la conducción nerviosa. Se ha demostrado que la utilización de hidroterapia supera el uso de hielo en paquetes ya que en el primero se aumenta el contacto y la evaporación. Se recomienda la utilización de hidroterapia por no más de 30 minutos, ya que por encima de este tiempo se produce una vasodilatación refleja que aumenta la tumefacción y el edema del tejido subcutáneo. En la fase aguda de la lesión la presión aplicada en el miembro afectado reduce la inflamación y el edema que se forma por el aumento de la presión hidrostática. Un vendaje de Robert Jones modificado es adecuado en la mayoría de las lesiones de tendones y ligamentos (Avella, Smith 2011).

El ejercicio controlado es parte intrínseca de la rehabilitación de lesiones en tendones y ligamentos ayudando a resolver la inflamación residual, mantener la función de deslizamiento, promueve la remodelación del colágeno y el alineamiento de las fibras. La mayoría de las lesiones del TFDS requieren de aproximadamente 8 a 9 meses para la rehabilitación, antes de la reanudación de la función completa, aunque algunos requieren de más de 18 meses. El objetivo del programa es proporcionar un ejercicio controlado y ascendente que optimice la cicatrización del tejido sin causar una nueva lesión, para esto se recomienda el seguimiento mediante ecografías seriadas para evaluar el tamaño de la lesión (Cuadro 1) (Avella, Smith 2011).

Cuadro 1. Programa de ejercicio típico* luego de una lesión tendinosa

Nivel de ejercicio	Semanas	Duración y Naturaleza del Ejercicio
0	0-2	Reposo en box
1	3	10 minutos al paso
1	4	15 minutos al paso
1	5	20 minutos al paso
1	6	25 minutos al paso
1	7	30 minutos al paso
1	8	35 minutos al paso
1	9	40 minutos al paso
1	10-12	45 minutos al paso
Semana 12: Repetir ultrasonografía		
2	13-16	40 minutos al paso y 5 minutos de trote todos los días
2	17-20	35 minutos al paso y 10 minutos de trote todos los días
2	21-24	30 minutos al paso y 15 minutos de trote todos los días
Semana 24: Repetir ultrasonografía		
2	25-28	25 minutos al paso y 20 minutos de trote todos los días
2	29-32	20 minutos al paso y 25 minutos de trote todos los días
Semana 32: Repetir ultrasonografía		
3	33-40	45 minutos de ejercicio diario con galope lento, aumentando gradualmente
3	41-48	45 minutos diario con trabajo rápido tres veces por semana
Semana 48: Repetir ultrasonografía		
4	48+	Retorno al entrenamiento de carrera/ competencia plena

*Este programa puede ser acortado o alargado dependiendo de la severidad de la lesión y el progreso del paciente.

Extraído de Equine Surgery. Auer, J. Stick, J. (2011)

b. Ondas de choque, ultrasonido, laser, campo magnético

La terapia de ondas de choque pueden ser utilizadas pero el mecanismo de acción no está bien definido, pero se cree que proporciona analgesia a través de los efectos en los nervios sensitivos. Los reportes más frecuente de utilización de ondas de choque en equinos ha sido para el tratamiento de desmitis proximal del LS, se observo un mejor pronóstico comparado con el tratamiento conservador en un miembro posterior con desmitis proximal del LS (Avella, Smith 2011).

Otros tratamientos que pueden utilizarse son terapéuticas con ultrasonido, laser y campo magnético. El efecto de los antes mencionados sobre los tejidos no está muy claro aun. Se cree que el efecto principal del ultrasonido es la conversión de la energía como sonido en energía térmica. Se ha demostrado que en la aplicación de ultrasonido hubo un aumento de la vascularización y la proliferación fibroblástica. Una terapia con nivel bajo de laser estimula el metabolismo celular y mejorar la proliferación fibroblástica y la síntesis de colágeno (Henninger 1994). La terapia magnética no tiene ensayos clínicos que demuestren su eficacia en su utilización en curación de tendones y ligamentos, a pesar de su uso generalizado por los propietarios y entrenadores de caballos el reporte de su eficacia es anecdótico (Avella, Smith 2011).

c. Cauterización

El uso de cauterización ya sea en la forma química o térmica ha sido utilizado por muchos años en la práctica equina para el tratamiento de lesiones tendinosas y ligamentosas. Se utilizo iodo tópico y compuestos a base de mercurio como cáusticos para la forma química. Para el termo-cauterio se han utilizado barras calientes o puntas de fuego (pins) (Avella, Smith 2011). Estudios posteriores demostraron que no existió diferencia histológica en la organización del colágeno, comparando con el grupo de control. Se ha encontrado que el beneficio resultante de la utilización de termo-cauterio fue dado por el reposo consecuente, la liberación local de citoquinas inflamatorias, y el vendaje fibroso dando soporte al tendón (Silver y col. 1983).

Sin embargo, se ha demostrado que las puntas de fuego causan adelgazamiento y debilidad de la piel donde se realiza la cauterización (Silver y col. 1983). Los limitados estudios controlados que se han realizado sobre las puntas de fuego han concluido que no es un tratamiento efectivo para las lesiones en tendones y ligamentos (Avella, Smith 2011).

d. Tratamiento farmacológico

El manejo farmacológico esta dado por la medicación local o sistémica. Tanto los corticosteroides sistémicos y antiinflamatorios no esteroideos pueden ser considerados para la etapa de inflamación de los tendones o ligamentos durante la fase aguda. La fenilbutazona es el antiinflamatorio no esteroideo (AINE) utilizado con mayor frecuencia, en una dosis de 2,2mg/kg cada 12 horas. Los AINE son sustancias que inhiben algún componente del sistema enzimático que convierte el ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos (Fig. 3) (Stashak 2004). Existen dos formas de la ciclooxigenasa la forma constitutiva (COX-1) e inducible (COX-2). Se ha sugerido que la COX-1 es responsable de la producción de prostaglandinas comprometidas con las funciones fisiológicas normales mientras que la COX-2 cuya producción comprende los lipopolisacáridos bacterianos y las citoquinas, parece tener un papel en la inflamación. Se considera que la fenilbutazona ejerce su efecto analgésico inhibiendo la ciclooxigenasa inhibiendo la síntesis de prostaglandina a una dosis mucho más bajas que aquellas requeridas para suprimir el edema o el acumulo leucocitario en los focos inflamatorios. Estos fármacos en tratamientos prolongados deben ser utilizados junto con protectores gástricos ya que tienen como efecto colateral la producción de úlceras gastrointestinales así como también son nefrotóxicos. (Stashak 2004).

Los corticosteroides sistémicos puede ser administrado en las primeras 24 a 48 horas después lesiones, pero se debe evitar después de este tiempo, ya que también inhiben la fibroplasia y por lo tanto la reparación del tendón. Lo más comúnmente usado de los esteroides sistémicos es la dexametasona a 0,1 mg/kg en una sola dosis. Los corticosteroides afectan a los aspectos humorales de la inflamación, predominantemente mediante la inhibición de la producción de prostaglandinas. Muchas evidencias dan apoyo a la inhibición de la generación de metabolitos proinflamatorios (prostaglandinas) a partir del ácido araquidónico como el mecanismo primario de la acción de los corticosteroides. Se considera que esta acción se debe sobre todo a la inhibición de la fosfolipasa A₂ por parte del grupo de las proteínas inducibles por corticosteroides, denominadas lipocortinas (Fig.3) (Stashak 2004). La inducción de laminitis con esteroides sistémicos representa un riesgo pequeño, pero real (Avella, Smith 2011).

El Dimetilsulfóxido (DMSO) utilizado en forma tópica o por vía intravenosa puede reducir la inflamación como resultado de su capacidad para eliminar los radicales libres, producidos por células inflamatorias y tejido isquémico. Se demostrado que un 40% a 90% DMSO de aplicación tópica puede debilitar al tejido normal del tendón (Avella, Smith 2011).

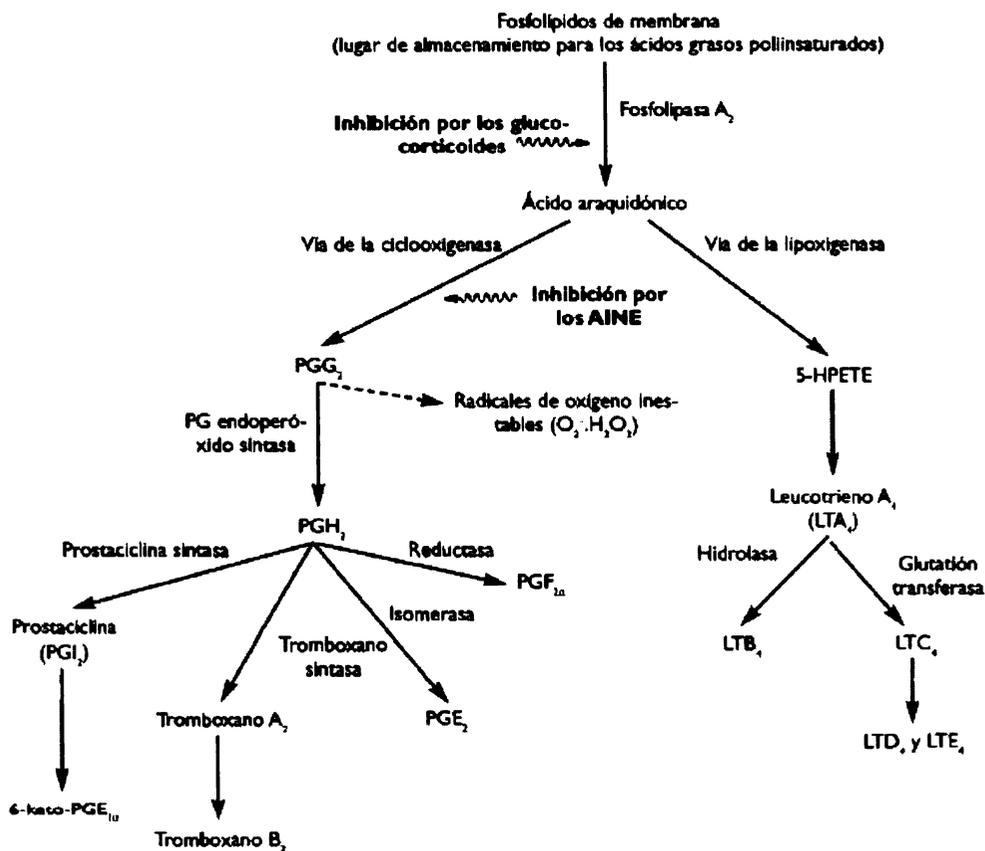


Fig.4 Esquema que representa las vías de la ciclooxygenasa y lipoxigenasa del metabolismo del ácido araquidónico, mostrando donde ejercen su influencia los corticosteroides y los AINEs.

Extraído de Adams: Claudicaciones en Equinos. Stashak, T. (2004)

e. Tratamiento intralesional

Se han utilizado varios tratamientos intralesionales para el manejo de las tendinopatías, estos tratamientos incluyen la utilización de glucosaminoglicanos polisulfatados (PSGAGs), ácido hialurónico (HA), beta aminopropionitrilo fumarato (BAPN), corticosteroides (Smith, Schramme 2003) (Dayson 2004) y recientemente se ha focalizado el interés en la utilización de factores de crecimiento y terapias basadas en el uso de células.

El tratamiento intralesional de tendones y ligamentos puede realizarse con el animal de pie sedado y con anestesia local o bajo anestesia general. Aunque la técnica se puede realizar a ciegas, mediante la inyección donde se detecta la menor resistencia en el tendón, la colocación exacta de la aguja en el centro de la lesión se logra mejor mediante la guía ecográfica. La piel que recubre el tendón o ligamento que va ser inyectado debe ser depilada y preparada asépticamente, si se va hacer guiado ecográfico debe colocársele una funda estéril sobre la sonda. Una aguja hipodérmica de 2.5 cm, 22 G puede ser utilizada para la mayoría de los tratamientos intratendinosos, aunque se debe tener en cuenta la viscosidad del agente. El tratamiento intralesional no se debe administrar hasta tres días después de la lesión, ya que existe la

posibilidad de aumentar la hemorragia. El volumen que se inyecta dentro del tendón o ligamento dependen del grado de lesión entre otros. Grandes volúmenes pueden resultar perjudiciales para la reparación del tendón (Avella, Smith 2011). Los glucosaminoglicanos polisulfatados se ha demostrado que inhiben las colagenasas y metaloproteinasas además inhiben la activación de los macrófagos (Dowling y col. 2000), pero se demostró que no tienen efecto sobre los fibroblastos. Los glucosaminoglicanos polisulfatados han sido utilizado ampliamente para el tratamiento de tendinopatías por vía intralesional y por vía intramuscular. En un estudio se demostró que la ecogenicidad mejora en tendinitis inducida por colagenasa tratados con glucosaminoglicanos intralesionales con una resolución más rápida de las lesiones centrales (Avella, Smith). Sin embargo, otro estudio demostró que no hubo diferencias significativas entre los caballos tratados con glucosaminoglicanos y los controles con ejercicio controlado solamente (Dayson 2004).

El ácido hialurónico (AH) se compone de unidades repetidas de ácido D-glucurónico y repetición de unidades de N-acetil-D-glucosamina y es un componente de la matriz extracelular del tendón. El AH se ha administrado por vía peritendinosa, intralesional, intratecal y sistémica para el tratamiento de tendinopatías (Avella, Smith 2011). Un estudio no mostro diferencias significativas entre las tasas de repetición de lesiones en equinos con tendinopatías del TFDS tratados con AH intralesional y aquellos que recibieron un tratamiento conservador (Dyson 2004).

f. Tratamiento quirúrgico

Entre las terapias quirúrgicas se encuentra la división longitudinal del tendón, esta se realizó por primera vez en la década del 40 pero la técnica fue publicado en 1967. Se recomendó inicialmente como un tratamiento para la tendinitis crónica para mejorar el flujo de sangre al tejido dañado del tendón, que es relativamente avascular. La técnica cayó en desuso cuando investigaciones posteriores demostraron la formación de tejido de granulación excesivo, el aumento de trauma del tejido tendinoso y la persistencia de claudicación luego del tratamiento (Avella, Smith 2011). La división del tendón por lo tanto ya no se recomienda para el tratamiento de la tendinitis crónica, pero ahora se piensa que es más relevante para el manejo de los casos agudos cuando existe una lesión central anecoica evidente en el examen ultrasonográfico, indicando la presencia de un seroma o hematoma. Existe la hipótesis de que la presencia de una lesión central dentro del tendón produce un síndrome compartimental, que resulta en disminución de la perfusión y la isquemia de la región. El objetivo de división del tendón en los casos agudos es por lo tanto, para descomprimir el centro de la lesión mediante la evacuación del suero o la hemorragia y facilitar el crecimiento vascular. La eliminación del líquido en el centro de la lesión también puede reducir la propagación proximodistal de la lesión. La división del tendón se puede realizar bajo sedación o bajo anestesia general. Se puede hacer a ciegas o utilizando un control ecográfico, lo que minimiza el daño al tejido normal del tendón permitiendo que la aguja o bisturí se inserte lo más próximo a la lesión central. La división también puede combinarse con diversos tratamientos intralesionales. Después de dividir el tendón se realizar un vendaje de Robert-

Jones modificado y el caballo queda estabulado por 10 a 14 días, tras lo cual un programa de ejercicio controlado debe ser iniciado (Avella, Smith 2011). Desmotomía del ligamento accesorio del tendón flexor digital superficial fue descrita por primera vez como tratamiento para la tendinitis TFDS por Bramlage en 1986. El objetivo de la cirugía es producir un alargamiento funcional de la unidad musculo tendinosa para reducir la tensión en el TFDS. Sin embargo, se ha demostrado en cadáveres de equinos que la desmotomía del ligamento accesorio del TFDS (DALSDFT) en realidad aumenta la tensión en el TFDS durante la carga debido al aumento extensión de la articulación metacarpofalangiana. Las alteraciones biomecánicas de DALSDFT por lo tanto, son complejas, y los estudios con miembros de cadáveres no podrán representar a los eventos biomecánicos en un galope fatigado de caballos de carrera. Sin embargo, el aumento de riesgo de lesiones del ligamento suspensor después DALSDFT también se ha demostrado en vivo. Más recientemente, este procedimiento se ha realizado mediante tenoscopia a través de la vaina del carpo (Avella, Smith 2011).

El extendido incremento del uso de tenoscopia ha demostrado una alta frecuencia de desgarros de los tendones que se asocian con tenosinovitis que causan claudicación. La evaluación ultrasonográfica comúnmente revela cambios no específicos en la hipertrofia de la sinovial, y frecuentemente son difíciles de identificar los desgarros en los tendones solamente con la ecografía. Sin embargo cuando el desgarro se extiende en el centro del tendón se puede identificar como una lesión anecoica (ya que se llena con líquido sinovial). Los desgarros usualmente pueden ser diagnosticados y debridados mediante tenoscopia en el TFDS y en los ligamentos sesamoideos distales por dentro de la vaina digital. Desgarros de otros tendones y ligamentos que tienen comunicación con cavidad sinovial puede observarse distención de las mismas asociadas con claudicación (por ejemplo en las ramas del ligamento suspensor sobre la articulación metacarpofalangiana/metatarsofalangiana (Avella, Smith 2011).

La desmotomía del ligamento anular puede ser realizada como tratamiento de lesiones de los tendones flexores digitales profundo y superficial de la región de las articulaciones metacarpo/metatarsofalangiana. Este proceso está indicado si el ligamento anular se encuentra impidiendo el normal movimiento de los tendones flexores (Avella, Smith 2011).

Fasciotomía y neurectomía de la rama profunda del nervio plantar para el tratamiento de la desmitis proximal del ligamento suspensor se ha descrito para el miembro posterior que no responde a los tratamientos conservadores. Se ha reportado que los caballos retornan al ejercicio luego de la neurectomía del nervio tibial. Sin embargo una neurectomía mas especifica se ha descrito que es la de la rama profunda del nervio plantar (Avella, Smith 2011).

Usualmente el tratamiento conservador en lesiones del TFDP es satisfactorio. Sin embargo en algunos casos se requiere de una intervención más invasiva como la desmotomía LATFDP (Avella, Smith 2011).

g. Tratamiento regenerativo

Los nuevos tratamientos médicos para artritis y tendinitis/desmitis en equinos están centrados en la utilización de biológicos, estos derivan de una gran variedad de fuentes naturales. El uso de factores de crecimiento es un enfoque relativamente reciente. El factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) ha sido investigado para determinar su efecto sobre la curación del tendón tanto in vitro como en modelos de tendinitis inducida por colagenasas. IGF-1 es una proteína anabólica en tendones y cartílagos que contribuye con la proliferación de tenocitos y síntesis de matriz extracelular (Dahlgren 2002).

El factor de crecimiento transformador beta (TGF- β) se ha considerado otro factor de crecimiento adecuado para el tratamiento, pero la experiencia clínica aun es limitada. Caballos tratados con TGF- β (una isoforma proscaring de TGF- β) mostro la ampliación significativa del tendón, y aunque volvieron a lesionarse las tasas de recidiva fueron similares a la de los caballos que recibieron tratamiento conservador, estas re-injurias fueron todas en el miembro colateral el cual no había sido tratado.

Matriz acelular de vejiga urinaria (ACELL acellular urinary bladder matrix) es un tratamiento intralesional en la tendinopatías, utilizando tejido acelular proveniente de la submucosa de la vejiga porcina (Avella, Smith 2011). Se ha propuesto que promueve una mejor cicatrización del tendón mediante el suministro de matriz para atraer a las células madre mesenquimales. Los resultados iniciales son alentadores, sin embargo cuando se testearon en un modelo de colagenasa no se encontraron efectos diferenciales comparados con inyecciones de solución salina. Con la llegada de nuevos agentes bilógicos tales como células madre mesenquimales entre otras este tratamiento parece haber caído en desuso (Goodrich 2011).

El tratamiento intralesional con medula ósea se ha investigado para desmitis del LS. El objetivo fue de estimular la regeneración en el lugar de formación de tejido cicatrizal por la liberación de células madre para el tendón o ligamento dañado. La medula ósea es una fuente rica en factores de crecimiento pero contiene pequeñas cantidades de células madre mesenquimales (1 de cada 104 son células nucleadas). Por lo tanto este se asemeja más a un tratamiento de factores de crecimiento. El uso de medula ósea intralesional como una fuente mesenquimal de células madre llevo al desarrollo del cultivo de células madres de medula ósea antes de la implantación. El uso de células madre autólogas para el tratamiento intralesional de lesiones del TFDS y LS ofrece la posibilidad de regeneración en lugar de reparación. Las células madres tienen el potencial de diferenciarse en tenocitos y para regenerar la matriz del tendón, creando así una reparación que es funcionalmente superior a la cicatriz de tejido fibroso. Los estudios iniciales han incluido el aislamiento de las células madre de medula ósea o tejido adiposo, seguido por implantación directa o expansión in vitro antes de la implantación (Avella, Smith 2011).

El plasma rico en plaquetas (PRP) es una fuente autógena de diversos factores de crecimiento, importante en la reparación de los tejidos, será mejor descrito a continuación.

9. PLAQUETAS Y FACTORES DE CRECIMIENTO

Las plaquetas equinas son fragmentos citoplasmáticos discoides de 5-7 μm de largo y 1-3 μm de ancho, aunque es frecuente observar plaquetas grandes (>20 μm). Los megacariocitos son los precursores de las plaquetas, estas células se desarrollan a partir de células progenitoras mieloides pluripotenciales CD34+ que residen en el tejido hemopoyético y el torrente sanguíneo (Arguelles y col 2006).

Las plaquetas (PLTs) desempeñan un papel primordial en la cicatrización, ya que estos fragmentos citoplásmicos además de poseer propiedades hemostáticas también poseen propiedades proinflamatorias, reguladoras y acciones regenerativas, las cuales están mediadas por la interacción con células (neutrófilos y células endoteliales) y por la liberación de factores de crecimiento, quimiocinas y otras moléculas (Anitua y col 2004).

La red citoplásmica de las plaquetas está constituida por dos tipos de actina (globular y filamentosa). La actina filamentosa actúa como soporte estructural para diferentes gránulos plaquetarios y mitocondrias. La respuesta plaquetaria se produce por una actividad contráctil mediada por la polimerización del complejo actina-miosina. Los microtúbulos citoplasmáticos mantienen la forma discoide de las plaquetas y dirigen los movimientos generados por actina-miosina (Carmona y col 2011). Las plaquetas contienen tres tipos de gránulos: lisosomales, densos y alfa (α). Los gránulos lisosomales contienen hidrolasas ácidas, guanina, fosfolipasas y quinasas, que actúan como enzimas proteolíticas e hidrolíticas. Los gránulos densos almacenan ADP, ATP, calcio, fósforo y serotonina (Fig. 4A). El ADP produce la migración plaquetaria y en combinación con la serotonina produce la contracción de las arterias lesionadas. El ATP antagoniza la acción del ADP. Los gránulos α contienen varias moléculas (citocina, quimiocinas, factores de crecimiento entre otras), algunas específicas para las plaquetas (por ejemplo: factor plaquetario IV y β -tromboglobulina) y otras que no son específicas para ellas, tales como albúmina, condroitín sulfato, fibrinógeno, fibronectina, trombospondina, factor V, factor Va y factor von Willebrand (Anitua y col. 2004). Los gránulos α almacenan principalmente siete factores de crecimiento directamente implicados en la cicatrización (Cuadro 2), entre ellos factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante beta 1 y 2 (TGF- β_1), (TGF- β_2), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) y factor de crecimiento fibroblástico (FGF) (Anitua y col. 2005).

Normalmente las plaquetas se encuentran en estado inactivo (Everts y col. 2006). La activación de las mismas puede ser realizada por agentes fisiológicos (trombina, tromboxano, colágeno, ADP, factor activador de plaquetas, serotonina y epinefrina) o farmacológicos (ioduro de calcio, cloruro de calcio y análogos de endoperoxido cíclico) (Carmona y col 2007). Cuando se produce una lesión tisular se dispara una fuerte interacción celular. Se producen respuestas plaquetarias independientes, tales como el cambio de forma, transformación interna, secreción de gránulos (Fig. 4B) (los gránulos α liberan proteínas por exocitosis en el lugar de lesión para iniciar el reclutamiento de otras plaquetas, leucocitos y proteínas plasmáticas) (Everts y col 2006).

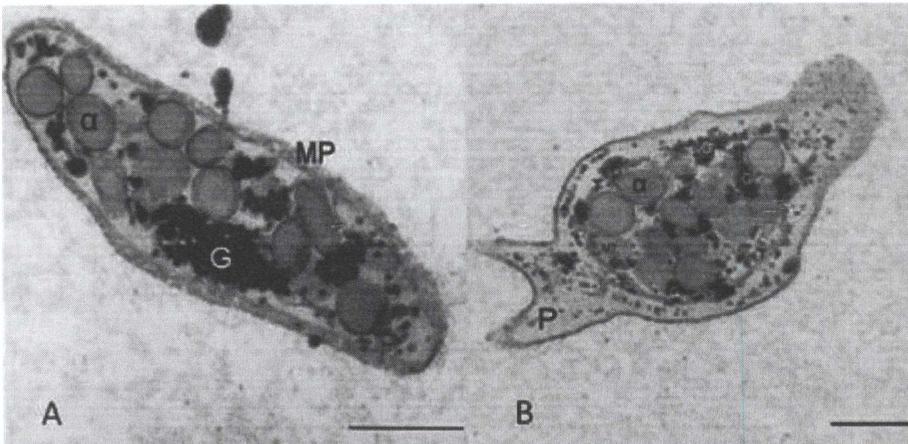


Fig. 5 Micrografías obtenidas mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) de una plaqueta equina normal (A) y de una plaqueta equina activada (B). MP: membrana plasmática. G: glicógeno. α : gránulos alfa. P: pseudópodo. MT: mitocondria. T: microtúbulos. La barra representa 1 μ m.

Extraída de Uso de concentrados autólogos de plaquetas como terapia regenerativa de enfermedades crónicas del aparato musculo-esquelético equino. Carmona y col. 2011.

Los factores de crecimiento son péptidos señalizadores que regulan el metabolismo celular por la interacción con un complejo de receptores de superficie celular, por las vías de señalización intracelular y finalmente por el aumento de transcripción de factores y producción de proteínas que resultan en la proliferación y diferenciación celular, como también por el aumento de la producción de matriz extracelular (Dahlgren y col. 2001).

Los factores de crecimiento pueden ser clasificados en dos grupos: morfométricos y mitogénicos. Los morfométricos se encuentran relacionados con el crecimiento óseo y pueden inducir la diferenciación de células madres mesenquimales pluripotenciales en células osteoprogenitoras inmaduras y maduras. Estos factores de crecimiento se llaman BMP's (proteína ósea morfogénica), que pertenece a la superfamilia de TGF- β . Pero la mayoría de los factores de crecimiento presentes en el PRP pertenecen al grupo de los mitogénicos. Los más conocidos son PDGF, BMP-2, TGF- β , EGF, VEGF, IGF-I. Existen formas isoméricas para muchos de ellos (PDGF-AA,-BB,-CC,-DD; TGF- β -1,-2,-3; VEGF-A,-B,-C,-D; FGF-1,-2,-4,-7,-9,-10; IGF-1,-2). Se cree que todas estas formas son específicas para ciertos tejidos y sus efectos no son los mismos en todos ellos. Estas diferencias en cuanto a la especificidad se remarcan aun más cuando se comparan los efectos entre distintas especies de mamíferos. Estos factores de crecimiento no son exclusivos de las plaquetas y muchos de ellos se sintetizan y encuentran en otros tejidos (Abellanet de Oleza 2009).

Los factores de crecimiento mitogénicos están relacionados con el aumento de la población de células cicatrizales. El TGF- β , EGF o IGF actúan en forma sinérgica mejorando el acceso de las células inflamatorias para el área de lesión, así como la angiogenesis, fibroplasia y regeneración de la piel (reepitelización). Resumidamente los factores de crecimiento provenientes de los gránulos α producen quimiocina, proliferación y diferenciación celular, neovascularización y depósito de matriz extracelular (Everts y col. 2006).

Cuadro 2. Fuente y función de algunos factores de crecimiento presente en PRP

FACTOR DE CRECIMIENTO	FUENTE	FUNCION
FC transformante beta (TGF- β)	Plaquetas, matriz ósea y cartilaginosa, linfocitos T helper (Th1) activados, células natural killer, macrófagos monocitos y neutrofilos	Estimula La proliferación de células mesenquimales indiferenciadas; regula la mitogénesis endotelial, fibroblástica y osteoblástica; regula la síntesis de colágeno y la secreción de colagenasa, regula el efecto mitogénico de otros factores de crecimiento; estimula la quimiotaxis endotelial y la angiogenesis; inhibe la proliferación de macrófagos y linfocitos ^{1,2,3}
FC fibroblástico básico (bFGF)	Plaquetas, células mesenquimales, macrófagos, condrocitos y osteoblastos	Promueve el crecimiento y la diferenciación de los condrocitos y osteoblastos; favorece mitosis de células mesenquimales, condrocitos y osteoblastos ^{4,5}
FC derivado de plaquetas (PDGF)	Plaquetas, osteoblastos, células endoteliales, macrófagos, monocitos y células musculares lisas	Favorece mitosis de células mesenquimales y osteoblastos; estimula la quimiotaxis y mitogénesis de fibroblastos, células de la glia y musculares lisas; regula la síntesis de colágenasa, estimula la quimiotaxis de macrófagos y neutrofilos ^{1,6}
FC epidérmico (EGF)	Plaquetas, macrófagos y monocitos	Estimula la quimiotaxis endotelial y angiogenesis; regula la secreción de colagenasa; estimula la mitogénesis epitelial y mesenquimal ^{7,8}
FC endotelial vascular (VEGF)	Plaquetas y células endoteliales	Aumenta la angiogenesis y permeabilidad vascular; estimula la mitogenesis de células endoteliales ^{3,9,10}
FC de tejido conjuntivo (CTGF)	Endocitosis mediada por las plaquetas en la medula ósea	Promueve la angiogenesis; regeneración de cartilago; fibrosis y adhesión plaquetaria ^{11,12}
FC semejante a insulina (IGF-I)	Plaquetas	Señaliza a las células mesenquimales y epiteliales a la migración, división y aumento de la síntesis de colágeno y matriz ¹³

FC: factor de crecimiento. 1. Pierce y col. (1991), 2. Bames y col (1999), 3. Marsolais & Frenette (2005), 4. Roster y col. (1998), 5. Waing (1996), 6. Friesel & Maciag (1995), 7. Canalis y col. (1989), 8. Steenfos (1994), 9. Martin y col (1992), 10. Rhee y col. (2004), 11. Hom & Maisel (1992), 12. Kubota y col. (2004), Schwartz-Arad y col. (2007). Fuente: Modificado a partir de Everts y col (2006).

Extraído de Maia, L., De Souza, M. (2009c).

10. PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

El Plasma Rico en Plaquetas es un preparado que contiene una porción autóloga de plasma, de fácil adquisición y bajo costo con concentración plaquetaria por encima de los niveles normales. Por poseer una gran concentración de plaquetas, el PRP es una amplia fuente de factores de crecimiento, que una vez secretados son importantes para la reparación de los tejidos debido a la producción de colágeno, el aumento de la mitosis y la diferenciación celular, para el estímulo de la angiogenesis o para reclutar otras células al lugar de la lesión (Monteiro de Castro Neves 2008). Aunque Marx (2004) declaró que el número de plaquetas concentradas en un PRP debería ser mayor que un millón de fragmentos citoplasmáticos por μL (extrapolado de la medicina humana siendo en gran parte sin el aval de ensayos clínicos), Anitua (2004) como también Carmona y col. (2011) han observado que concentraciones hasta 300.000 plaquetas por μL pueden inducir un efecto terapéutico similar. En un estudio in vitro con fragmentos de TFDS equino Schnabel y col. (2007) demostraron la eficiencia de PRP utilizado en una concentración media de 395.000 plaquetas por μL . La concentración de plaquetas depende del conteo inicial en la sangre entera, ósea que a mayor número inicial de plaquetas más rico será el PRP. De esa forma la trombocitopenia es un factor limitante para la concentración adecuada de plaquetas (Barbosa y col. 2006). La importancia de la concentración absoluta para la reparación es incierta (McLellan, Pelvin 2011). Los diferentes tejidos poseen diferentes requerimientos para la curación (Schnabel y col. 2008), y puede considerarse inapropiado aplicar los requerimientos de un tejido en forma generalizada (Monteiro y col. 2009).

El efecto terapéutico del PRP está dado por la degranulación de los gránulos α de las plaquetas, con liberación de una serie de factores de crecimiento (Bosch y col. 2010). Una mayor cantidad de plaquetas resulta en mayor concentración de factores de crecimiento (Sutter y col. 2004). El número de plaquetas así como también la concentración de factores de crecimientos son utilizadas en el laboratorio para evaluar la calidad del PRP, pero se debe tener cuidado al elegir un sistema en base de la concentración de los factores de crecimientos por varias razones: la importancia de la concentración absoluta de factores de crecimientos no está clara, los ELISA comerciales son extremadamente sensibles a la contaminación con glóbulos rojos y no están diseñados específicamente para el uso equino (Smith y col. 2006). Debido a estas deficiencias se ha sugerido que las mediciones biológicas han resultado ser utilizadas en lugar de cuantificación de factores crecimientos para evaluar el PRP. En cuanto a la concentración de plaquetas se ha demostrado que la solución de PRP al 10% tiene un mayor efecto en los explantes de ligamento suspensor que en una concentración del 5% y este efecto es mayor aun al 100% (McLellan, Pelvin 2011).

Las plaquetas más comúnmente se consideraban por su rol en la hemostasia más que por el rol en la iniciación de la reparación de heridas. Sin embargo las plaquetas juegan un rol muy importante en la curación de heridas. En general las plaquetas se activan cuando son expuestas al tejido dañado iniciando así la cascada de coagulación. Las plaquetas activadas están incorporadas dentro del coagulo o hematoma donde se degranulan. Es de particular importancia la

degranulación de los gránulos α que contienen numerosos factores de crecimiento, se conoce que estos aumentan la mitogénesis, la producción matriz entre otras características de la cicatrización (Sutter 2007).

Cuando el PRP es activado (la formación de gel por las plaquetas), esto es una explosión inicial o la liberación de factores de crecimiento presintetizados comenzando dentro de los 10 minutos de coagulación. Aproximadamente el 95% de los factores de crecimiento pre-sintetizados son liberados dentro de la siguiente hora. Seguido de la explosión inicial las plaquetas continúan sintetizando y secretando proteínas adicionales por 5 a 10 días.

Por lo tanto, la teoría de la base terapéutica del PRP es la siguiente: una herida es reparada con la formación de un coagulo o matriz provisional con mayor concentración de proteínas responsables de la reparación que se proporcionan de forma natural por la activación de la sangre entera. Esto puede ser una clave estratégica para el tratamiento de la curación lenta en heridas crónicas, en las que los mecanismos naturales de reparación son ineficientes. Aunque gran parte de la atención en los efectos biológicos del PRP se han centrado en los efectos de los factores de crecimiento y sus efectos anabólicos, existen otros componentes de las plaquetas que pueden ser beneficiosos. Tales como las proteínas séricas, como fibrinógeno, fibrina, fibronectina, vitronectina y trombospondina también poseen un papel importante en la curación (Sutter 2007).

El PRP ha sido utilizado en la medicina humana para la reconstrucción en cirugías maxilofaciales en tratamiento de defectos óseos periodontales, cirugías plásticas y ortopédicas, estimulando la reparación obteniendo un tejido de mejor calidad. Además existen reportes sobre el uso de PRP en personas con tendinopatías en el tendón de Aquiles y sobre otros tejidos blandos como lesiones musculo esqueléticas crónicas, constituyendo una opción terapéutica previa a una intervención quirúrgica (Mishra, Pavelko 2006). También se han utilizado para el tratamiento de artropatías severas como la osteoartritis, artritis reumatoidea con resultados muy alentadores. Se ha sugerido que las concentraciones superiores a las fisiológicas de factores de crecimiento en el PRP actúan en forma positiva para acelerar la reparación de heridas, disminución de la respuesta inflamatoria y promueve la regeneración de los tejidos (Marx 2004).

En Medicina Veterinaria recientemente el PRP viene siendo utilizado para la regeneración de cartílagos tendones y ligamentos así como también para heridas en los miembros, en los cuales por debajo del carpo/tarso se tornan resistentes a la reparación incluso en animales sanos se cree que esto es debido a la disminución del aporte sanguíneo y consecuentemente la disminución de oxígeno (Carter y col. 2003), regulación persistente de factores de crecimiento profibroticos, disparidad entre la síntesis y lisis del colágeno así como la oclusión microvascular y deficiencia en la apoptosis de los componentes del tejido de granulación (Monteiro y col. 2009).

Arguelles y col. (2005) observaron en siete equinos con patología tendinosa o ligamentosa que después del tratamiento con aplicación intralesional de PRP la reducción en el grado de claudicación así como también la mejora en la imagen ultrasonográfica de las estructuras involucradas, con algunos animales retornando a sus actividades después de dos meses de tratamiento. Resultados similares obtuvieron Michelotto y col. (2009) los cuales realizaron

tratamientos con PRP sobre tres caballos Sangre Pura de Carrera de 2 y 3 años con desmitis de las ramas o del cuerpo del LS diagnosticada por ultrasonografía, al ser reevaluados luego de 15 días de ser tratados presentaban desde resoluciones aparentemente completa de la lesión hasta un caso que no demostró respuesta, pero que a los 30 días post tratamiento la lesión se redujo en un 48%. En otro estudio realizado sobre dos caballos de polo de cinco años los cuales presentaron afección del TFDS se le realizó tratamiento 9 días después de ocurrida la lesión con 1,5cc de PRP autólogo intralesional. Ambos caballos fueron ejercitados del cabestro al paso durante 60 días luego del tratamiento y seguimiento ultrasonográfico cada mes obteniendo como resultado que la utilización de PRP mejoro la calidad del tendón lesionado demostrándose por las imágenes ultrasonográficas (Pimienta de Pádua Foz y col. 2009).

Un estudio que se llevo a cabo para evaluar los efectos del PRP en el tratamiento de tendinopatía inducida (por colagenasa) en el TFDS en seis equinos mestizos castrados de edades entre los 8 y 15 años, obtuvo resultados positivos en la posterior evaluación histológica y ultrasonográfica. Observándose en aquellos tratados con una sola dosis de PRP (2.5 ml de PRP activados con 0.0125mol/L de cloruro de calcio con una concentración de 320,000 a 500,000 plaquetas/ μ L) mayor organización de las fibras de colágeno, los fibroblastos mejor dispuestos sobre la matriz del tendón, y menor número de adherencias en comparación con el grupo control, en una biopsia realizada del área lesionada realizada a los 36 días posteriores del tratamiento (Maia y col. 2009a). La evaluación ultrasonográfica se realizó antes y después de la inducción de la tendinitis (a las 48 horas, luego en los días 7, 12, 14, 21, 28, 35, 42 del experimento) siendo evaluados el área transversal del tendón (ATT), área transversal de la lesión (ATL), el porcentaje de ATL, la intensidad en la ecogenicidad de la lesión así como el paralelismo de las fibras de colágeno. Los resultados revelan reducción de ATL y el grado de ecogenicidad de la lesión en función del tiempo, pero con menores valores de ATL en el grupo tratado. El tratamiento con PRP proporciona una mayor reducción en el área de lesión en comparación con los controles (Maia y col. 2009b).

Araujo y col. (2009) describen la utilización de PRP como tratamiento de una lesión en el tendón tibial-craneal en una yegua de raza appaloosa de seis años de edad utilizada para competencia de barriles. Esta presentó un grado de claudicación de 3 (en una escala de 0 a 5), después de patear una valla, fue examinada 30 días después de recibir tratamiento convencional con hielo y antiinflamatorios. En ese momento la evaluación ecográfica demostró una lesión ocupando 60 % de la superficie derecha del tendón tibial-craneal, esto evidencio la ruptura de fibras con una ecogenicidad de tipo III-IV. Se le realizó tratamiento intralesional con PRP junto con cloruro de calcio en una proporción de 4,4mEq/ml de plasma guiado por ultrasonografía, la lesión se reevaluó a los 15 días de la inyección del PRP y encontraron que la lesión involucraba solo un 15% del área transversal del tendón. Se realizó una segunda aplicación intralesional de PRP con el mismo protocolo que la primera. Luego de 15 días de la segunda inyección se realizó ultrasonografía detectando un llenado de la lesión de buena calidad con una ecogenicidad de tipo I-II (Araujo y col. 2009).

En un estudio realizado sobre cinco caballos, de los cuales dos presentaban tendinitis aguda del TFDS y tres con desmitis proximal del LS, los autores observaron mejora clínica en ambas afecciones luego del tratamiento

intralesional con PRP. Por ende la evaluación ecográfica demostró que los animales con tendinitis presentaban evolución positiva. Los animales regresan a su entrenamiento habitual a los seis meses de instaurado el tratamiento, no se observaron recidivas hasta veinte meses después del mismo, ya que en ese periodo los animales se mantuvieron en observación (Arguelles y col. 2008).

Un estudio realizado sobre caballos Standardbred de carrera con edad promedio de 4 años con lesiones moderadas y severas en el tercio medio del cuerpo del LS. Presentaron una media del área transversal de lesión al inicio de la evaluación fue de 42% fueron tratados con PRP, a su vez se realizó una comparación con 9 Standardbred normales que compitieron en el mismo periodo y en condiciones similares (sexo, edad entre otras). Dicha comparación tenía como finalidad comparar número de partidas en el primer, segundo y tercer año luego del tratamiento, con respecto a los animales sanos (controles). Los equinos que recibieron tratamiento se les administro PRP intralesional (con una concentración de plaquetas de $1,37 \times 10^6$ plaquetas/ μ L siendo significativamente mayor que las concentraciones que se encuentran en la sangre entera $1,55 \times 10^5$ plaquetas/ μ L) junto con trombina bovina (20 U/ml) para favorecer la degranulación de las plaqueta y la liberación de los factores de crecimiento, luego se mantiene vendado el miembro. Se valoro el progreso de la lesión mediante ultrasonografía cada 4 semanas. Se instauró un programa de ejercicios controlados regresando a ejercicios fuertes entre los días 151 y 180. El aumento de ejercicio se llevo a cabo en base a la evaluación ultrasonográfica y la observación del progreso en la curación de la lesión, así como también el grado de claudicación. Los 9 caballos con desmitis del cuerpo del LS retornaron a las carreras luego del tratamiento en la media de tiempo de 32 semanas (rango entre 26 y 68). Los 9 casos corrieron durante el primer y segundo año luego del tratamiento pero solo 5 de 9 casos corrieron durante el tercer año. Lo que no difirió con los equinos normales controles. Como resultado de esta investigación se obtuvo que la utilización de una sola dosis PRP intralesional en lesiones moderadas y graves del LS asociado con un programa de ejercicio controlado tiene un excelente pronostico para el retorno a las carreras (Waselau y col. 2008).

En un estudio in vitro con fragmentos de TFDS de equinos se encontró que el PRP comparado con otros productos de la sangre (plasma pobre en plaquetas PPP, plasma total, sangre entera y aspirado de medula ósea) presenta elevada concentración de factores de crecimiento con efectos anabólicos sobre la síntesis de la matriz tendinosa (Schnabel y col.2007). En este estudio se examinaron los patrones de expresión de genes, ADN y contenido de colágeno en fragmentos del TFDS en cultivos con PRP y otros productos de la sangre. Se extrajo y se proceso la sangre y la aspiración de medula ósea obteniendo plasma, PRP y plasma pobre en plaquetas PPP. Se cuantifico IGF-I, TGF- β 1 y PDGF-BB en todos los productos sanguíneos. Los fragmentos fueron cultivados en medios con sangre entera, PRP, PPP o aspirado de medula ósea, en concentraciones de 100%, 50% o 10% en serum-free DMEM (Delbecco's modified Eagle médium) con aminoácidos. Las concentraciones de TGF- β 1 y PDGF-BB fueron mayores en PRP comparado con el resto de los productos testeados. Los tendones que se encontraban en cultivos de PRP al 100% mostraron una mejor expresión de los genes de moléculas de la matriz COL1A1, COL3A1 y COMP sin el ingreso concomitante en las moléculas

catabólicas metaloproteinasas-3 y 13 (MMP-3 y MMP-13). Estos resultados dan apoyo a la investigación del uso de PRP autólogo sobre pacientes con tendinitis equina (Schnabel y col. 2007). En un estudio similar realizado por Schnabel y col. (2008) evaluaron los efectos del PRP, de la medula ósea acelular en la expresión de patrones de genes y contenido de ADN en fragmentos de LS equino, se observó que en los cultivos de fragmentos del LS con medula ósea acelular presentó un incremento estadístico en la expresión de COMP comparado con el resto de los derivados sanguíneos incluidos aquellos cultivos de medula ósea al 10 y 50%. Por lo que se concluye que la utilización de medula ósea acelular al 100% es el producto más efectivo de los investigados de derivados sanguíneos presentando mayor respuesta anabólica y sin la estimulación de moléculas catabólicas.

Carmona y col. (2007) utilizando concentrados de plaquetas en el tratamiento de osteoartritis en las articulaciones femorotibial, tibiotalar, intertarsiana, metacarpofalangiana en equinos observaron una mejora en la claudicación así como también reducción en la efusión articular y efecto antiinflamatorio.

Los métodos de obtención de plasma rico en plaquetas en la práctica equina son extrapolados de la medicina humana. Se pueden clasificar en una forma amplia como automatizados o manuales, en los manuales el operario puede controlar la interface plasma-células rojas y puede ajustar el volumen del paquete celular, pero tiene la desventaja que presenta mayor riesgo de contaminación bacteriana que los métodos automatizados ya que estos últimos son cerrados. Los métodos manuales más utilizados son: método de tubo, método de capa leucocitaria y el método de aféresis (Arguelles y col. 2006). El método de tubo presenta la ventaja que la técnica tiene un bajo costo y mínimo requerimientos técnicos en comparación con las otras dos, sin embargo debe realizarse extremando las medidas de seguridad para evitar la contaminación de la muestra (Weibrich y col. 2005). En un estudio realizado por Arguelles y col. (2006) evaluando la técnica de tubo con una única o una doble centrifugación encontraron que la mayor concentración de plaquetas se encuentra en las muestras que reciben doble centrifugación. El método consta en la extracción de sangre por venopunción de la vena yugular externa colectado 80 ml en tubo con anticoagulante citrato de sodio al 3,8%, luego se centrifuga a 120g por 5 minutos. Se obtiene dos fracciones extrayéndose 20 ml de la porción por encima de la capa leucocitaria, se depositan 10 ml en tubo para ser centrifugado a 240g por 5 minutos se extrae la fracción más baja del tubo (5 ml aproximadamente). En dicho estudio se utilizó el cloruro de calcio al 10% a una dosis de 250 μ l/5ml de PRP como activador de las plaquetas para favorecer la degranulación y así la liberación de los factores de crecimiento, los autores utilizaron el cloruro de calcio debido a que es una sustancia inerte y libre de efectos secundarios como pueden ser reacciones inmunológicas que si fueron descritas para la trombina, siendo esta proteína la más utilizada como activador en la medicina humana (Arguelles y col. 2006).

Más recientemente Textor (2011a) describió que realizó la preparación de PRP extrayendo la sangre entera con citrato-acido-dextrosa (en una relación de una parte de anticoagulante y nueve de sangre entera) con doble centrifugación la primera a 200g durante 15 minutos, extrayéndose el plasma a un nuevo tubo, el plasma recibió una nueva centrifugación a 400g durante 15 minutos. Las plaquetas sedimentaron el tubo y el exceso de plasma se extrajo y las

plaquetas fueron re suspendidas en plasma quedando listas para usar. Mediante este método se logro una concentración de plaquetas de $1000 \times 10^3/\mu\text{l}$. Al igual que ocurre en otros métodos de preparación de PRP pueden variar individualmente la reacción plaquetaria como es la activación prematura, como una menor recuperación en el numero de plaquetas.

En un estudio realizado por Bosh y col. (2011b) se demostró que una única inyección de PRP es capaz de inducir un aumento significativo de la neovascularización en comparación con el proceso natural de curación de las lesiones inducidas quirúrgicamente en el TFDS en equinos. Este aumento de la vascularización podría muy bien dar una explicación importante para los efectos a largo plazo de un tratamiento de PRP único, como lo demuestra la mejora de la calidad del tejido de reparación de los tendones utilizado en el estudio de Bosh y col (2010). Como una vascularización adecuada es un requisito previo para el desarrollo optimo de las fases: aguda y proliferativa de la cicatrización del tendón, parece justificado realizar tratamientos con PRP en las primeras semanas después de sufrir la lesión en el tendón.

Según Sutter y col. (2004) la concentración de plaquetas mediante los métodos de capa leucocitaria y aféresis pueden utilizarse con éxito sin realizar modificación en los protocolos de uso humano. Ambos métodos fueron comparados para la concentración de plaquetas en equinos y se llego a la conclusión que el método de capa leucocitaria es el más adecuado teniendo en cuenta el tiempo que es menor para la realización del mismo y la otra ventaja que presenta es el menor costo, ya que el método de aféresis se requiere de un equipo especializado. Por lo que este último es más utilizado en la medicina humana, la desventaja que presenta el método de capa leucocitaria es que presenta mayor riesgo de contaminación bacteriana versus ninguna en la aféresis ya que es un sistema cerrado.

Existen varios sistemas automáticos comerciales que han sido utilizados en equinos, produciendo 7 ml de PRP a partir de 54 ml de sangre entera. Las ventajas que presentan estos sistemas son: fácil utilización, rapidez en la obtención de PRP y el mantenimiento de la esterilidad (Textor 2011a).

La administración de PRP es frecuentemente utilizada en forma intralesional utilizando técnicas estériles y usualmente guiada por ultrasonografía. Aunque algunos estudios avalan la inyección de PRP sin activación se demostró que la liberación de factores de crecimiento es significativamente menor en las aplicaciones inactivadas con respecto a las activadas. En un estudio realizado por Bosh y col. (2010) se obtuvieron efectos positivos en la utilización de PRP sin activación. Debe señalarse que en el estudio de Bosh y col. 2010 la concentración de los factores de crecimiento informado se midió de una muestra de PRP que habían sido congeladas y descongeladas, por lo tanto representan la concentración de los factores de crecimiento disponible en el sitio de la lesión. Esto se perfila como una buena recomendación para la activación del PRP, ya que el congelado y descongelado es una técnica efectiva, segura y actualmente un método de inducción en la liberación de factores de crecimiento. La cantidad de PDGF-BB liberadas luego del congelado fueron equivalentes a la cantidad liberada luego del tratamiento con una dosis baja ($1\mu\text{ml}$) de trombina bovina. Alternativamente al PRP se puede agregar Cloruro de Calcio (Cl_2Ca) al 10%, con una concentración final de $3,4\text{mg/ml}$ (23mM), debiendo tener en cuenta que si se superan estas

concentraciones puede resultar muy irritante. Un ejemplo si se desea preparar un volumen total de 7 ml, se coloca 6,75 ml de PRP y 0,25 ml de Cl_2Ca . Los niveles de liberación de factores de crecimiento son mayores con la activación del PRP con Cl_2Ca comparado con el congelado y descongelado (Textor 2011a).

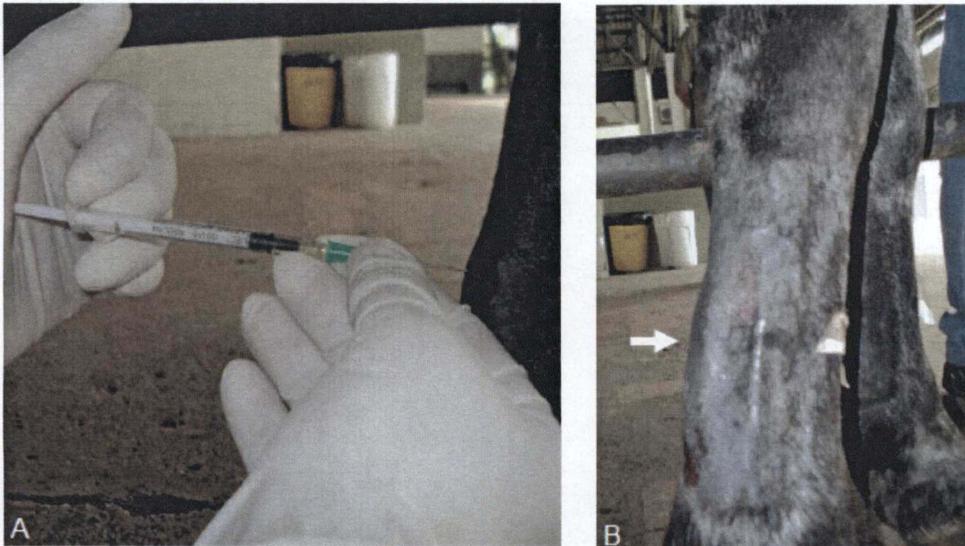


Fig. 6. **A**-Administración intralesional de PRP en el TFDS. **B**-Edema (flecha) producido inmediatamente después de la aplicación de PRP.

Extraído de Plasma Rico em Plaquetas no Tratamento de tendinite em Equinos: Avaliação clinica, ultrasonográfica e histopatológica. Maia, L. (2008).



Fig. 7 Aplicación intralesional de PRP en fistula seno-cutánea en una yegua con translocación de un colgajo de piel y periostio.

Extraído de 7 Jornadas Técnicas Veterinarias. Carluccio y col. (2011).

Textor y col. (2011b) realizaron un estudio evaluando el porcentaje de liberación de factores de crecimiento utilizando PRP inactivado y activado con detergentes iónicos, observando que las muestras inactivadas presentaban una liberación de solo el 15 % de sus factores de crecimiento.

La trombina de otras especies es segura su utilización en equinos. Waselau y col. (2008) en un estudio utilizaron aproximadamente dos unidades de trombina bovina por mililitro de PRP, y un estudio en reparación de heridas se informó el uso de 20 unidades de trombina humana por mililitro de PRP. Aunque se ha utilizado Cl_2Ca combinado con trombina esto no es necesario. Las plaquetas contienen suficiente calcio intracelular para proceder con la cascada de activación incluso en una muestra con anticoagulantes. No obstante la trombina no es una proteína benigna. A pesar de que sigue siendo motivo dependiente de la dosis la liberación de factores de crecimiento incluso muy por encima de los niveles fisiológicos, los efectos adversos en células y modelos de cultivos de tejidos han sido observados con una alta concentración de trombina. El Cl_2Ca puede ser utilizado solo como activador del PRP aunque es más leve y menos potente que la trombina (Textor 2011a).

Las ventajas conceptuales de la activación de las plaquetas durante la administración del PRP comparado con la simple lisis provocada por el congelado son: 1) mejor liberación de los factores de crecimiento inducida por la activación de los gránulos del cito-esqueleto; 2) el coagulado resultante sirve de matriz provisional dentro del lecho de la herida, utilizándose como armazón que favorece la reparación del tejido (Textor 2011a).

Debido a su carácter autólogo el PRP se considera una terapia extremadamente segura. Sin embargo se debe tener en cuenta que las plaquetas son células inflamatorias y en ciertas ocasiones leucocitos pueden estar presentes en PRP. Algunas veces el dolor agudo luego de la aplicación se ha detectado en humanos y equinos. Por lo que se recomienda la observación del paciente durante al menos 15 minutos luego de la aplicación, en caso de presentarse tumefacción o dolor en el sitio de la lesión, se puede utilizar terapia de frío aplicando hielo a la zona. Aunque la utilización de antiinflamatorios no esteroideos se evitan en la medicina humana, estudios sobre equinos demuestran que no existió interferencia en la utilización de fenilbutazona o naproxeno con el tratamiento de PRP (Textor 2011a).

11. CONCLUSIÓN

- Según la evidencia científica la utilización de PRP en lesiones musculoesqueléticas presenta ciertas ventajas que incluyen su naturaleza autóloga, alta concentración de factores de crecimiento que favorecen la reparación de los tejidos, formando luego de su aplicación una estructura que brinda organización al tejido lesionado con mayor porcentaje de moléculas de colágeno tipo I comparándolo con los resultados obtenidos en tratamientos tradicionales en los cuales predominan las células de colágeno tipo III.
- La obtención de PRP es un proceso que no es invasivo y su procesamiento se puede realizar con rapidez en un laboratorio básico, en comparación con otras terapias regenerativas como las células madres.
- La concentración de plaquetas varía según la técnica y esto es directamente proporcional al éxito de su utilización.
- Los tratamientos con PRP intralesional en lesiones de tendones y ligamentos obtuvieron resultados muy alentadores comparado con tratamientos tradicionales. Ambos tratamientos requieren de un adecuado periodo de rehabilitación que varía según el grado de la lesión pero la diferencia radica en que los tratados con PRP presentan beneficios en la estructura del tejido cicatrizal como son: mayor porcentaje de células de colágeno tipo I, mayor alineamiento de dichas fibras así como mayor resistencia a la tracción.
- Existen diferentes estudios que utilizan activadores junto con la aplicación de PRP mientras que otros no. La bibliografía más reciente apoya el uso de trombina o cloruro de calcio cuantificándose mayores porcentajes de factores de crecimiento liberados, aunque también se obtuvieron buenos resultados con la utilización de congelado y descongelado.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Abellanet de Oleza, I. (2009) 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 Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, 250p.
2. Alberts, B., y col. (2006) Biología molecular da celula. 4a ed. Porto Alegre, Artmed: 1463p.
3. Alberts, B., y col. (2007) Fundamentos da biología celular. 2a ed. Porto Alegre, Artmed, 740.
4. Alves, A., y col. (2001) Influencia do fumarato de beta-aminopropionitrila associada ao exercio na cicatrização tendinea eqüina. Avaliação clinica e ultrasonografica. Revista de Educação Continuada 4: 19-27.
5. Anitua, E., y col. (2005) Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. Journal of Orthopedic Research 23:281-286.
6. Anitua, E., y col. (2004) Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thrombosis and Haemostasis 91:4-15.
7. Araujo, L., y col. (2009) Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) in Cranial Tibial Tendon Lesion of a "Three Barrels" Appaloosa Mare. Proceedings of the 11th International Congress of Word Equine Veterinary Association. Guaruja, SP, Brasil. (poster).
8. Arguelles, D., y col. (2008) Autologous platelet concentrates as a treatment for musculoskeletal lesions in five horses. The Veterinary Record 162:208-211.
9. Arguelles, D., y col. (2006) Evaluation of single and double centrifugation tube methods for concentrating equine platelets. Research in Veterinary Science 81:237-245.
10. Arguelles, D., y col. (2005) Clinical experiences with platelet-rich plasma as a treatment of tendon and ligament injuries in the horse. Proceedings, European College of Veterinary Surgeons, Barcelona, España 217-222.
11. Avella, C., Smith, R. (2011) Diagnosis and Management of Tendon and Ligament Disorders. En: Auer, J, Stick, J. Equine Surgery. 4a.ed. St. Louis, Missouri. Elsevier Sounders p.1157-1179

12. Avella, C., y col. (2009) Ultrasonographic assessment of the superficial digital flexor tendons of national Hunt racehorses in training over two racing seasons. *Equine Veterinary Journal* 41:449.
13. Barbosa, A., y col. (2006) Plasma rico em plaquetas: uma fonte de múltiplos fatores de crescimento para enxertos ósseos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 58:64-65.
14. Bosh, G., y col. (2011a) Computerized analysis of standardized ultrasonographic images to monitor the repair of surgically created core lesions in equine superficial digital flexor tendons following treatment with intratendinous platelet rich plasma or placebo. *The Veterinary Journal* 187: 92-98.
15. Bosh, G., y col. (2011b) The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions. *Scandinavian Journal Medical and Science in Sports* 21: 554-561.
16. Bosch, G., y col. (2010) Effect of platelet rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendon: A placebo controlled experimental study. *Journal of Orthopedic Research* 28:211-217.
17. Brich, H., y col. (1997) Oxidative energy metabolism in equine tendon cells. *Research in Veterinary Science* 62: 94-97.
18. Carluccio, J., y col. (2011) Uso de una placa de titanio para la reparación de fistula seno-cutánea en una yegua con translocación de un colgajo de piel y periostio. 7 Jornadas Técnicas Veterinarias. Montevideo, Uruguay. (poster).
19. Carmona, J., y col. (2011) Uso de concentrados autólogos de plaquetas como terapia regenerativa de enfermedades crónica del aparato musculo esquelético equino. *Archivos de Medicina Veterinaria* 43: 1-10.
20. Carmona, J., y col. (2007) Autologous platelet concentrates as a treatment of horses with osteoarthritis: a preliminary pilot clinical study. *Journal of Equine Veterinary Science* 27: 167-170.
21. Carter, C., y col. (2003) Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology* 74:244-255.
22. Clegg, P., y col. (2007) Cell phenotypic variation in normal and damaged tendons. *International Journal of Experimental Pathology* 88: 227-235.
23. Dahlgren, L. (2007) Pathobiology of tendon and ligament injuries. *Clinical Techniques in Equine Practice* 6: 168-173.

24. Dahlgren, L., y col. (2006) Expression of insulin-like growth factor binding proteins in healing tendon lesions. *Journal of Orthopedic Research*; 24: 183-192.
25. Dahlgren, L., y col. (2005) Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions. *Journal of Orthopedic Research* 23: 84-92.
26. Dahlgren, L., y col. (2002) Insulin like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagen-induced model of flexor tendinitis. *Journal of Orthopedic Research* 20: 910-919.
27. Dahlgren, L., y col. (2001) Effects of β -aminopropionitrile on equine tendon metabolism in vitro and on effects of insulin-like growth factor-I on matrix production by equine tenocytes. *American Journal of Veterinary Research* 62: 1557-1562.
28. Davis, C., Smith, R. (2006) Diagnosis and management of tendon and ligament disorders. En: Auer, J. A.; Stick, J. A. *Equine Surgery*. 3a.ed. Philadelphia, Saunders, 1086-1110p.
29. Dyson, S. (2004) Medical management of superficial digital flexor tendinitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000). *Equine Veterinary Journal* 36:415-419.
30. Dowling, B., y col. (2000) Superficial digital flexor tendinitis in the horse. *Equine Veterinary Journal* 32: 369-378.
31. Egerbacher, M., y col. (2007) Cyclic loading inhibits activation of the apoptotic pathway caused by loss of homeostatic tendon strain: The importance of the mechanobiological "survival signal." *International Symposium on Ligaments & Tendons- VII*. San Diego, California, United States of America, 32 p.
32. Everts, P., y col. (2006) Platelet-rich-plasma and platelet gel: a review. *The Journal of Extracorporeal Technology* 38: 174-187.
33. Goodrich, L. (2011) Tendon and ligament injuries and disease. En: Baxter, G. M. Adams and Stashak's *Lameness in Horses*. 6a. ed. Chichester, Willey-Blackwell, p. 627-638.
34. Goodship, A., y col. (1994) The pathobiology and repair of tendon and ligament injury. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice*. 10: 323-349.
35. Henninger, R. (1994) Treatment of superficial digital flexor tendonitis. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 10:409.

36. Jozsa, L., Kannus, P. (1997) Human tendons: anatomy, physiology and pathology. Champain: Human kinetics, 574 p.
37. Kaneps, A. (2008) Platelet-Rich Plasma: A New Treatment for Tendon and Ligament Injuries in Horses. Dover, New England Equine Medical and Surgical Center, 4p.
38. Lavagnino, M., y col (2006) Isolated fibrillar damage in tendons stimulates local collagenase mRNA expression and protein synthesis. *Journal of Biomechanic* 39:2355-2362.
39. Maia, L., y col. (2009a) Platelet-Rich Plasma in the Treatment of induced tendinopathy in Horses: Histologic Evaluation. *Journal of Equine Veterinary Science* 29:618-626.
40. Maia, L., y col. (2009b) Plasma rico em plaquetas no tratamento de tendinite induzida em equinos: avaliação ultra-sonográfica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29: 241-245.
41. Maia, L., De Souza, M. (2009c) Componentes ricos em plaquetas na reparação de afecções tendo-ligamentosas e osteo-articulares em animais. *Ciência Rural* 39: 1279-1286.
42. Maia, L. (2008) Plasma Rico em Plaquetas no Tratamento de tendinite em Equinos: Avaliação clínica, ultrasonográfica e histopatológica. Tesis Universidad Federal de Viçosa, 78p.
43. Marsolais, D., Frenette, J. (2005) Inflammation and tendon healing. *Medicine Sciences* 21:180-186p.
44. Marx, R. (2004) Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *Journal Oral Maxillofacial Surgery* 62: 489-496.
45. Mclellan, J., Pelvin, S. (2011) Evidence-based Clinical Question Does it matter which platelet-rich plasma we use? *Equine Veterinary Education* 23:101-104.
46. Michelotto Junior, P., y col. (2009) Platelet-Rich Plasma (PRP) in Suspensory Ligament lesions- Use in three Thoroughbred Racehorses. *Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association*. Guarujá, SP, Brasil. 2p.
47. Mishra, A., Pavelko, T. (2006) Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *American Journal of Sport Medicine* 34: 1774-1778.
48. Monteiro, S., y col. (2009) Effect of platelet-rich plasma on the repair of wound on the distal aspect of the forelimb in horses. *American Journal of Veterinary Research* 70:277-282.

49. Monteiro de Castro Neves (2008) O uso do Plasma Rico em Plaquetas no Tratamento de Tendinopatias. *Brazilian Journal of Equine Medicine* 19: 26-35.
50. Patterson-Kane, J., y col. (1998) Effects of training on collagen fibril populations in the suspensory ligament and deep digital flexor tendon of young Thoroughbreds. *American Journal of Veterinary Research* 59:64-68.
51. Pimenta de Pádua Foz Filho, R., y col. (2009) Treatment of Tendinitis in Polo Ponies using Platelet-Rich Plasma (PRP): Case Report. *Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association*. Guarujá, SP, Brazil (poster).
52. Reef, V. (1998) *Equine Ultrasound Diagnostic*. Philadelphia. Saunders Company. 560p.
53. Riley, G. (2004) The pathogenesis of tendinopathy. *A Molecular Rheumatology* 43:131-142.
54. Riley, G. (2005) Chronic tendon pathology: molecular basis and therapeutics implications. *Experiment Reviews in Molecular Medicine* 7: 1-25.
55. Rumian, A., y col. (2007) Tendons and ligaments are anatomically distinct but overlap in molecular and morphological features: a comparative study in ovine model. *Journal of Orthopedic Research* 25:458-464.
56. Sack, W., y col. (1992) *Nomina Embryologica Veterinaria*. *Proceedings of the 18th General Assembly of the World Association of Anatomists*, Ghent, Belgium, 59p.
57. Sande, R., y col. (1998) Diagnostic ultrasound: applications in the equine limb. En: Rantanen, N., Mackinnon, A. *Equine diagnostic ultrasonography*. Baltimore, William & Wilkins, 103-117.
58. Schnabel, L., y col. (2008) Effects of platelet rich plasma and acellular bone marrow on gene expression patterns and DNA content of equine suspensory ligament explant cultures. *Equine Veterinary Journal* 40: 260-265.
59. Schnabel, L., y col. (2007) Platelet Rich Plasma (PRP) Enhances Anabolic Gene Expression Patterns in Flexor Digitorum Superficialis Tendons. *Journal of Orthopedic Research* 25:230-240.
60. Silver, I., y col. (1983) A clinical and experimental study of tendon injury, healing and treatment in the horse. *Equine Veterinary Journal Supplement* 1:1.

61. Smith, R. (2003) Pathophysiology of tendon injury. En: Ross, M., Dyson, S. Lameness in the Horse. Philadelphia, Saunders, p 616-628.
62. Smith, R., Goodship, A. (2008) Fisiología del ligamento y del tendón. En: Hinchcliff, K., Kaneps, A., Geor, R. Medicina y Cirugía de los Equinos de Deporte. Buenos Aires, Inter-médica. p. 149-172.
63. Smith, R., Schramme, M. (2003) Tendon injury in the horse: current theories and therapies. In Practice 25: 529-539.
64. Smith, R., y col. (1999) Should equine athletes commence training during skeletal development? Changes in tendon matrix associated with development, ageing, function and exercise. Equine Veterinary Journal Supplement 31:201.
65. Smith, R. (1998) Assessment and treatment of tendon injury. Meeting... Department of Farm Animal and Equine Medicine and Surgery, London, England, The Royal Veterinary College Hawkshead Lane North Mymms, p. 10-14.
66. Stashak, T (2004) Adams: Claudicaciones en Equinos. 5ª.ed. Buenos Aires, Inter-médica. 1248p.
67. Stashak, T. (1994) Manejo de las heridas que afectan a tendones, paratendones y vainas tendinosas. En: Stashak, T. S. Manejo de las heridas en los equinos. Buenos Aires, Inter-médica, p. 201-215.
68. Sutter, W. (2007) Autologous Cell-Based Therapy for Tendon and Ligament Injuries. Clinical Techniques in Equine Practice 6: 198-208.
69. Sutter, W., y col. (2004) Comparison of hematologic values and transforming growth factor- β and insulin-like growth factor concentration in platelet concentrates obtained by use of buffy coat and apheresis methods from equine blood. American Journal of Veterinary Research 65:924-930.
70. Silver, I., y col. (1983) A clinical and experimental study of tendon injury, healing and treatment in the horse. Equine Veterinary. Journal Supplement 1:1.
71. Textor, J. (2011a) Autologous Biologic Treatment for Equine Musculoskeletal Injuries: Platelet-Rich Plasma and IL-1 Receptor Antagonist Protein. Veterinary Clinics of North America Equine Practice 27: 275-298.
72. Textor, J., y col. (2011b) Effects of preparation method, shear force, and exposure to collagen on release of growth factor from equine platelet-rich plasma. American Journal of Veterinary Research 72: 271-278.

73. Tsuzaki, M., y col. (2003) IL-1 beta induces COX2, MMP-1,-3 and -13, ADAMTS-4, IL-1 beta and IL-6 in human tendon cells. *Journal of Orthopedic Research* 21:256.
74. Waselau, M., y col. (2008) Intralesional injection of platelet-rich plasma by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 232:1515-1520.
75. Weibrich, G., y col. (2005) Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in growth-factors kit to produce platelet rich plasma: a technical report. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 29:118-123.
76. Wilson, D., y col. (1991) Composition and morphologic features of the intraosseous muscle in Standardbreds and Thoroughbreds. *American Journal of Veterinary Research* 52: 133-139.