



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**MONOGRAFÍA:**

**EVALUACIÓN DE LAS TERAPIAS REGENERATIVAS, PLASMA RICO EN  
PLAQUETAS Y CÉLULAS MADRES, EN LAS PATOLOGÍAS DE TENDONES EN  
EQUINOS DE DEPORTES.**

**Via Anaii Graciela Morales García**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico  
Veterinario  
Departamento de Ciencias  
Clínicas.

**PROFESOR GUÍA: DR. ADOLFO F. GODOY PINTO**

**SANTIAGO, CHILE.**

**2018**



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**MONOGRAFÍA:**

**EVALUACIÓN DE LAS TERAPIAS REGENERATIVAS, PLASMA RICO EN  
PLAQUETAS Y CÉLULAS MADRES, EN LAS PATOLOGÍAS DE TENDONES EN  
EQUINOS DE DEPORTES.**

**Via Anaii Graciela Morales García**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas.

Profesor Guía: Adolfo Godoy Pinto \_\_\_\_\_

Profesor Corrector: Gustavo Farías Roldan \_\_\_\_\_

Profesor Corrector: Mario Acuña Bravo \_\_\_\_\_

**SANTIAGO, CHILE**

2018

## ÍNDICE

<b>1. Resumen</b>	<b>1</b>
<b>2. Abstract</b>	<b>2</b>
<b>3. Introducción</b>	<b>3</b>
<b>4. Revisión Bibliográfica</b>	<b>5</b>
<b>a. Tendones: estructura y función</b>	<b>5</b>
<b>b. Fisiopatología de las lesiones tendineas</b>	<b>6</b>
<b>c. Fisiopatología de la regeneración/reparación del tendón</b>	<b>9</b>
<b>d. Diagnóstico y terapia convencional de las lesiones tendineas</b>	<b>12</b>
<b>e. Terapias regenerativas en lesiones tendineas</b>	<b>13</b>
<b>f. Plasma rico en plaquetas (PRP)</b>	<b>14</b>
<b>g. Células madres</b>	<b>22</b>
<b>5. Objetivo general y específico</b>	<b>32</b>
<b>6. Materiales y métodos</b>	<b>33</b>
<b>7. Discusión</b>	<b>38</b>
<b>8. Conclusión</b>	<b>46</b>
<b>9. Bibliografía</b>	<b>44</b>

## **RESUMEN**

Las tendinopatias en equinos es una de las causas mas frecuentes de la baja en el rendimiento deportivo de estos animales. El gran problema de estas lesiones tendineas es que, mas del 50% de los animales tratados con las terapias convencionales sufren de recidivas o se agrava la lesión inicial. Esto es explicado por la reparación natural que existe en el tendón y las características que estas estructuras tienen como son: la baja tasa metabólica que implica mala neovascularizacion, baja celularidad y por lo tanto, una mala e incierta reparación, generando mayor grado de cicatrización que de regeneración en el tendón lesionado. Hoy en día se han empezado a utilizar y a estudiar terapias regenerativas que ayuden a aumentar el porcentaje de regeneración que existe en una reparación tendinea.

El objetivo de esta revisión fue reunir información acerca de la evaluación de las terapias regenerativas plasma rico en plaqueta y celulas madres en tendinopatias en equinos de deporte, pudiendo evaluar los beneficios que ellas aportan a la reparación tendinea. Los resultados encontrados fueron, que estas terapias ayudan a que este tejido lesionado genere mayor grado de regeneración, aumentando la tasa metabólica del tendón por lo cual se origina una estructura parecida al tejido original.

En consecuencia, es de suma importancia que se sigan estudiando estas terapias regenerativas las que aportan beneficios a la medicina equina y humana, ayudando a que estos equinos vuelvan o superen el nivel deportivo que tenían antes de producirse la lesión.

**Palabras clave:** Terapias regenerativas, tendinopatias, reparación, cicatrización.

## **ABSTRACT**

The tendinopathies in horses is one of the most frequent causes of the declination in the sports performance of these animals. The big problem with these tendinous lesions is that more than 50% of the animals treated with conventional therapies suffer recurrence or the initial lesion is aggravated. This is explained by the natural repair that exists in the tendon and the characteristics that these structures have such as, the low metabolic rate that leads to bad neovascularization, low cellularity and therefore a bad and uncertain repair, generating a greater degree of scarring than of regeneration in the injured tendon. Today, they have begun to use and study regenerative therapies that help increase the percentage of regeneration that exists in a tendon repair.

The objective of this review was to gather information about the evaluation of regenerative therapies rich in platelet plasma and stem cells in tendinopathies in sport horses, being able to evaluate the benefits that they contribute to the tendinea repair. The results were that these therapies help this injured tissue generate a greater degree of regeneration, increasing the metabolic rate of the tendon, which leaves us with a structure similar to the original tissue.

Consequently, it is of total importance that these regenerative therapies continue to be studied which provide benefits to equine and human medicine, helping these equines return or surpass the sporting level they had before the injury occurred.

**Key words:** Regenerative therapies, tendinopathies, repair, healing.

## **INTRODUCCIÓN**

El caballo es un animal con capacidad para el trabajo físico muy superior a la del ser humano, esto le ha permitido establecerse como una herramienta útil e indispensable en el desarrollo de la humanidad. Por su estructura y capacidades se ha utilizado a través de la historia en la agricultura, la guerra, el transporte, etc. A través del tiempo esta especie se ha ido seleccionando de acuerdo con las cualidades de las diferentes razas, para la utilización en distintas disciplinas deportivas, llegando a ser reconocidos como atletas de elite y de alta exigencia, por lo anterior, se han visto expuestos a exigencias que muchas veces son responsables de lesiones que finalmente impiden su normal desempeño y óptimo rendimiento. La mayoría de las patologías que afectan a los equinos, son afecciones músculo esqueléticas asociadas a alteraciones del patrón biomecánico normal, dado por un desorden funcional y/o estructural del aparato locomotor, lo cual puede ser generado por una afección ósea y/o de tejidos blandos. Dentro de las lesiones más comunes en las estructuras blandas del equino se encuentran aquellas que afectan a los tendones, estructuras que deben cumplir con la función de conectar el músculo con el hueso, permitiendo la transmisión de fuerzas generadas por estos en el desplazamiento, en lo cual radica la gran importancia de su integridad relacionada a un correcto patrón biomecánico. Las afecciones de estas estructuras son denominadas tendinopatías, generalmente causadas por la fuerza que ejerce el animal, un cambio brusco en el movimiento, un golpe fuerte, o acumulaciones de microlesiones producidas por las exigencias máximas a las que son sometidos.

En esta monografía se profundiza sobre la fisiología de los tendones, la fisiopatología de las tendinopatías más frecuentes y la relación que tienen con las terapias regenerativas, como son plasma rico en plaquetas (PRP) y células madres. Hoy en día al estar en frente a una patología tendínea, el procedimiento médico veterinario de rutina apunta a los tratamientos convencionales utilizado en tendones y ligamentos, como son mejorar la reparación, utilizando crioterapia, vendajes, uso de antiinflamatorios no esteroideos y reposo prolongado, sin embargo, con el uso de estas terapias convencionales el gran problema es la recidiva del cuadro. La baja efectividad de estos tratamientos se puede explicarse principalmente por la fisiología de la reparación del tendón, ya que el proceso de

cicatrización de esta estructura se lleva a cabo reemplazando la zona de lesión con tejido cicatricial, el cual carece de propiedades funcionales y biomecánicas que tiene esta estructura en condiciones de normalidad. Por lo tanto, dado este conjunto de problemas, se ha hecho necesario y relevante dar un paso en la transición de la medicina reparativa hacia la medicina regenerativa, donde se han estado implantando técnicas como plasma rico en plaquetas (PRP) y células madres, como una alternativa para lograr mejores resultados terapéuticos al enfrentar una lesión tendínea.

Basado en lo anterior, el objetivo de esta monografía es recoger información actualizada sobre el uso de la medicina regenerativa en patologías tendíneas en equinos, comparando el resultado de dos técnicas utilizadas como son PRP y células madres. De esta manera, poder describir la efectividad de cada una de ellas ante la misma patología tendínea en caballos de deporte, analizando la velocidad y el porcentaje de curación dado por cada terapia y así dar una orientación de protocolos terapéuticos basados en estas nuevas tecnologías.

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **TENDONES: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN**

Los tendones son estructuras situadas entre el músculo y el hueso, siendo su función principal llevar o transmitir la fuerza generada por el músculo al hueso produciendo el movimiento articular (Hernández, 2012; Otondo, 2012; Sharma y Malffulli, 2017). En el equino los tendones y ligamentos son imprescindibles para el funcionamiento óptimo del aparato locomotor (Hernández, 2012; Sharma y Malffulli, 2017). En el caballo, cuyas extremidades son más largas que las del cuerpo humano, las estructuras blandas como los tendones adquieren grandes dimensiones, como ocurre en el caso del tendón flexor digital superficial (TFDS) y del tendón flexor digital profundo (TFDP), por lo que están expuestos constantemente a grandes fuerzas. Cuando el caballo galopa, los tendones absorben y liberan gran cantidad de energía elástica para poder producir el movimiento, llevando al tendón a su límite, por el esfuerzo que realiza. Por consecuencia, dada la tensión a la que están sometidas estas estructuras, están predispuestos constantemente a sobrecargas en el tejido, alterando la función de elasticidad original (Ranera, 2012).

Los tendones están compuestos por fascículos altamente organizados, formados exclusivamente por fibras de colágeno tipo I, las que están embebidas por una matriz acuosa de proteoglicanos, glicoproteínas, fibras elásticas, electrolitos y agua (Hernández, 2012; Peña, 2017; Peroni, 2017; Sharma y Malffulli, 2017). Las células que forman los tendones son fibroblastos especializados, llamados tenocitos (Carmona y López, 2011). Lo que envuelve los fascículos es un tejido conectivo laxo llamado endotendón, el cual, se subdivide en otros fascículos dentro del tendón (Hernández, 2012; Peña, 2017), el responsable de cubrir los tendones es llamado epitenón, compuesto por una fina capa de tejido conectivo que incluye el suministro vascular, linfático y nervioso del tendón (Sharma y Malffulli, 2017). En determinados sitios donde los tendones sufren algún tipo de roce contra el hueso u otras estructuras, se presentan envueltos por una vaina, la cual está constituida por tejido conectivo y unida a la estructura adyacente, además tiene un tejido interno unido al tendón, estableciendo un espacio que es ocupado por un líquido, muy



similar al líquido sinovial para poder lubricar el movimiento del tendón dentro de la vaina (Peña, 2017; Sharma y Malffulli, 2017).

Las lesiones en los tendones producidas como consecuencia de la actividad física son frecuentes tanto en humanos como en animales, particularmente en los equinos, siendo los caballos de deporte los más afectados (Hernández, 2012). Todas las estructuras mencionadas anteriormente son de suma importancia para la correcta funcionalidad del sistema músculo esquelético, el cual manifiesta su deterioro en algunas patologías frecuentes, algunos estudios sugieren que estas lesiones representan cerca del 82 % de los problemas de pérdida de rendimiento, manifestado clínicamente como claudicaciones, y de este porcentaje entre 46 y 53 % corresponde a lesiones en tendones y ligamentos (Carmona y López, 2011).

### **FISIOPATOLOGÍA DE LAS LESIONES TENDINEAS**

El equino deportista está expuesto a factores intrínsecos y extrínsecos que lo predisponen a sufrir diversos tipos de lesiones. Dentro de estos factores encontramos la fatiga muscular, la mala conformación, el exceso de actividad deportiva, lesiones en el miembro colateral, etc, donde prevalecen los factores extrínsecos, como el trauma agudo (Abellanet, 2009; Otondo, 2012; Sharma y Malffulli, 2017). En condiciones normales existe un equilibrio entre el anabolismo y catabolismo natural de los tendones, que es mantenido por dos enzimas, siendo la primera las metaloproteinasas que van a degradar la matriz extracelular, ayudando a la remodelación y otras enzimas llamadas inhibidoras tisulares que controlan la actividad de las metaloproteinasas (Otondo, 2012).

Este equilibrio entre el anabolismo y catabolismo, se mantiene estable en condiciones normales del caballo, pero al producirse una pérdida de este en el sistema músculo esquelético o un nivel de ejercicio mayor a lo que está acostumbrado, puede llegar a superar la elasticidad del tejido, produciendo una interrupción del equilibrio de las enzimas mencionadas, generando un daño en el tendón, siendo el factor desencadenante más común, la fatiga muscular (Sharma y Malffulli, 2017). El tendón tiende a estimular la curación de una lesión mediante los tenocitos residentes, pero esta, puede no dar abasto con las

exigencias que le disponen, también el daño en el tendón puede ser generado por microtraumas que se van acumulando, pudiendo llegar a un límite fisiológico que no permite una correcta regeneración (Ranera, 2012; Sharma y Malffulli, 2017).

El tendón dentro de sus propiedades biomecánicas considera la elasticidad, plasticidad y viscosidad, características que son condicionadas por componentes estructurales tales como su morfología, vascularización e inervación. Al extenderse, los tendones son sometidos a pequeñas fuerzas asociadas a la extensión de los fascículos que componen su estructura, esto es conocido como límite elástico (Carmona y López, 2011; Scipioni, 2011; Peroni, 2017). Desde el punto de vista mecánico, el tendón es una estructura que permite un estiramiento del 4 % como límite sin sufrir alguna lesión, siendo en esa oportunidad donde los puentes transversos se ponen tensos sin producir ruptura. Desde el 5 % en adelante comienzan a generar separaciones o rupturas de estos puentes, produciendo una lesión proporcional a la tensión generada o al tiempo que se demore en aplicar la misma (Hernández, 2012).

Del análisis de la curva tensión-deformación (Anexo N°1), se puede identificar en la primera parte de esta, un comportamiento elástico del material. La deformación aumenta de forma proporcional a la fuerza aplicada, sin existir cambios estructurales al disminuir la fuerza de tracción. La segunda parte de la curva expresa la plasticidad del tejido tendíneo, donde se necesitan significativos aumentos de la fuerza de tracción para que el tendón sufra pequeñas deformaciones. Por último, en la tercera parte de la curva podemos ver una progresiva elongación del tejido tendinoso ante mínimas fuerzas de tracción, esto ocurre debido al estrés de los mecanismos compensadores que actúan en la primera fase, llegando al límite de las propiedades biomecánicas de la estructura del tendón (Sánchez, 2009).

La fisiopatología de la tendinitis está conectada directamente con el resultado que existe entre el estrés y la tensión en el tendón. Al traspasar este límite, producido inicialmente por una injuria se produce una hemorragia y en una segunda fase ocurre una marcada reacción inflamatoria, aumentando el flujo sanguíneo, desarrollando edema, infiltración de neutrófilos, macrófagos, monocitos y liberación de enzimas proteolíticas. Las células

inflamatorias llegan al sitio de la lesión fagocitando el tejido dañado (Otondo, 2012; Sharma y Malffulli, 2017). El sufijo *itis* en medicina significa inflamación, por tanto, una tendinitis es la patología del tendón en donde podemos encontrarlo en una situación de dominio inflamatorio, siendo esta característica predominante en las lesiones agudas de naturaleza traumática como lo son las contusiones, los desgarros o las roturas del tendón. Cuando la causa de la lesión son micro traumatismos repetidos sobre el tendón se habla de lesiones por sobreuso. En este caso no se habla de una lesión aguda sino más bien una lesión crónica y por tanto, la podríamos denominar tendinitis crónica (Sánchez, 2011).

Las lesiones tendineas por sobreesfuerzo se producen por la sobrecarga repentina, cuando estas sobrepasan la resistencia biomecánica natural del tendón. Todos los tendones tienen cualidades visco elásticas, lo que significa que sus propiedades mecánicas varían a medida que se van tensando. La primera fase es donde se realiza el alineamiento del rizado de fibrillas o fase elástica, la segunda fase es la elongación basada en la fuerza tensil estructural del tendón, al exceder la resistencia base y mantener una elongación continua se produce la ruptura de los entrecruzamientos covalentes entre las fibrillas. En la etapa viscoelástica se producen las lesiones residuales y además se genera el punto de no retorno, pasando a la fase de rotura tendinosa (Romero, 2016). Las lesiones ocasionadas en los tendones también ocurren como mencionamos anteriormente por causa de la degeneración previa, la que además se podría considerar como una etapa de cornificación de la fase viscoelástica, donde se han producido daños estructurales en el tendón (Romero, 2016).

La sobrecarga mecánica y los micro traumatismos parecen ser los factores etiológicos más aceptados en las tendinopatías crónicas. Sin embargo, están descritos otros factores intrínsecos y extrínsecos que tienen directa relación con la patología y que posiblemente sean factores predisponentes a ella. Dentro de los factores intrínsecos tenemos la falta de aplomo, debilidad o desequilibrio muscular, disminución de la flexibilidad muscular, laxitud capsulo-ligamentosa, obesidad, nutrición y la edad (Sánchez, 2011). Con la edad los cambios más significativos que se producen en el tendón consisten en aumento del contenido de colágeno, se genera una degeneración de la matriz de proteoglicanos, lo cual lleva directamente a una disminución de la elasticidad, disminución del contenido de agua hasta del 50 %, lo que produce modificaciones del lecho vascular que dificultan el flujo

sanguíneo y el abastecimiento de oxígeno, desviando el metabolismo energético hacia la vía anaeróbica (Hernández, 2012). Dentro de los factores extrínsecos que predisponen a tener una patología tendinea, se consideran los más comunes, los errores de entrenamiento, la falta de reposo, equipamiento inadecuado, canchas en mal estado o factores micro ambientales (Sanchez *et al.*, 2009).

### **FISIOPATOLOGÍA DE LA REGENERACIÓN/CICATRIZACIÓN DEL TENDÓN**

La escasa efectividad de los tratamientos que se utilizan actualmente en las tendinopatías, es explicada por los procesos fisiológicos de la regeneración tendínea incompleta. Se entiende por cicatrización de un tejido biológico a la restauración de dicho tejido sin que éste conserve su arquitectura original. La reparación espontánea de los tejidos blandos es lenta y se obtiene por un proceso de fibrosis, lo que genera que el tejido lesionado se vaya colmando de fibras de colágeno tipo III en vez de colágeno tipo I, lo que genera un tejido menos entrecruzado, formando un tejido menos fuerte. Las propiedades mecánicas y físicas serán inferiores, siendo reparado con tejido cicatricial fibrocondrogénico (Abellanet, 2009; Romero, 2016). Esta fase comienza luego de unos días y dura varios meses, está asociada con una pronunciada respuesta angiogénica e infiltración de fibroblastos, produciendo una cicatriz con mayor proporción de colágeno tipo III (Abellanet, 2009; Otondo, 2012; Peroni, 2017).

El objetivo de la medicina regenerativa en los equinos es cambiar el destino de una herida llevándola de la cicatrización y formación de una cicatriz, a la regeneración del tejido y de su función original. Las lesiones de elección en equinos para utilizar las terapias regenerativas resultan ser las tendinopatías y desmopatías ya que en estos tejidos es difícil poder recuperar un tendón fuerte y elástico que permita al equino deportista volver a las competencias (Arias y Beato, 2013).

Ocurre esta deficiencia en la curación por la baja celularidad y baja actividad mitótica en los tendones, la reparación interna del tendón se realiza, en parte, por las células del endotendon y epitenón con un cierto grado de proliferación de tenocitos en el lugar de la lesión (Ranera, 2012). Aunque las células madres mesenquimatosas han podido mejorar en

un 1% las reparaciones, se sigue estudiando como poder llegar a un mayor porcentaje de regeneración para así tener menor cantidad de recaídas en los pacientes tratados (Godwin *et al.*, 2011).

Como mencionamos, en la fase de remodelación existe una sustitución incompleta de colágeno tipo I, las fibras de colágeno se organizan de forma paralela, muy parecido al tendón normal y junto a fibroblastos logran la formación del tejido cicatricial (Otondo, 2012; Sharma y Malffulli, 2017), siendo este tejido menos funcional que el tendón original, lo que se traduce en un menor rendimiento y el riesgo de volver a producir una nueva lesión (Scipioni, 2011). El colágeno tipo III predomina, y en procesos de cicatrización temprana se ha visto la formación de microfibrillas de pequeño diámetro (Carmona *et al.*, 2009). Por esta razón existe una recidiva de más de un 50%, como resultado al escaso éxito de las actuales técnicas terapéuticas, hoy en día nuevas líneas terapéuticas se han hecho presente y han centrado los estudios en la regeneración por sobre la cicatrización del tejido dañado (Hernández, 2012). Se entiende por regeneración, la restauración del tejido original conservando las propiedades y características, recuperando la funcionalidad del tejido nativo (Romero, 2016). El objetivo final de esta terapia es llegar a alcanzar una curación funcional total y poder llegar a la completa regeneración (Vásquez *et al.*, 2012).

Para poder obtener los mejores resultados en la regeneración de un tejido dañado es completamente necesario combinar tres elementos esenciales en el sitio de lesión: tener una matriz tridimensional donde el nuevo tejido se pueda organizar, células capaces de diferenciarse en fibroblastos que generen matriz extracelular en el sitio de la lesión, combinar los factores de crecimiento y citoquinas que puedan inducir la regeneración y finalmente es necesario tener estímulos biomecánicos adecuados para organizar la matriz producida por las células involucradas en esta curación (Arias y Beato, 2013).

El proceso de la reparación se lleva a cabo en tres fases distintas, la respuesta inflamatoria, fase de reparación fibroblástica y fase de remodelación/maduración, estas fases se superponen y no tienen un punto de comienzo ni un punto de final que este determinado (Romero, 2016). La primera fase es la respuesta inflamatoria, produciendo luego de la lesión una inmediata vasoconstricción capilar que dura de cinco a 10 minutos, para luego

seguir con una vasodilatación provocada por la liberación de histamina, lo que causa un estasis venoso con aumento de la permeabilidad de las células endoteliales vasculares, donde parte la migración de leucocitos a la zona de lesión. Estos leucocitos que van llegando no sólo se encargan de fagocitar las sustancias desechadas, además liberan factores de crecimiento necesarios para poder activar a los fibroblastos. Al establecer la inflamación se produce una reacción vascular local que va a elaborar la formación de un tapón de plaquetas y el crecimiento de tejido fibroso, produciendo un coágulo por la conversión de fibrinógeno en fibrina, lo que produce aislamiento del área lesionada. Esta fase inflamatoria es beneficiosa para el tejido lesionado, ya que en ella se produce una fagocitosis con la intención de eliminar elementos o sustancias producidas por la lesión, preparando el terreno para la regeneración tisular posterior (Sanchez, 2011).

En la fase proliferativa parte el crecimiento de fibroblastos, ocurre horas luego de la lesión y este puede durar entre cuatro y seis semanas. En este tiempo los signos de la inflamación (calor, rubor, tumefacción, dolor, disminución de la función), van remitiendo a medida que el proceso de reparación va avanzando (Romero, 2016). Como se produce una disminución de la presión de oxígeno (PO<sub>2</sub>), lo que lleva a estimular la proliferación de los capilares hacia el lugar de la lesión, curando en condiciones aeróbicas. Luego con el aumento de llegada de sangre se produce lo contrario, un incremento del suministro de oxígeno y los nutrientes que se necesitan para la proliferación fibroblástica, por lo que se produce la síntesis de los elementos que forman la matriz extracelular (Romero, 2016).

La diferencia de esta etapa del proceso entre la tendinopatía aguda con la forma crónica, es que en esta última la neo vascularización es de mala calidad, por lo que la lesión carece de suficiente aporte vascular. Por tanto, el tendón será incapaz de progresar hacia la reparación (Sanchez, 2011).

Durante el 6<sup>o</sup>-7<sup>o</sup> día luego de la lesión, los fibroblastos empiezan a formar fibras de colágeno que inicialmente se organizan al azar en el tejido. Siendo este el momento clave en el que un estímulo mecánico óptimo favorecerá la alineación y remodelación del colágeno neoformado. A medida que aumenta la fuerza de tensión en el tejido colágeno disminuye el número de fibroblastos, lo que marca el comienzo de la fase de maduración. (Sanchez *et al.*, 2009).

En la última fase de remodelación y maduración se lleva a cabo una reorganización de las fibras de colágeno que constituyen el tejido cicatricial. A medida que el tendón recibe un aumento de tensión, las fibras de colágeno se disponen en paralelo e irán siguiendo los vectores de la fuerza de tracción que se le ejerza. El tejido tendrá una apariencia y un funcionamiento normal, alrededor de la tercera semana se habrá formado una cicatriz resistente y avascular. Sin embargo, debemos tener en cuenta que esta fase puede durar meses o incluso varios años (Romero, 2016).

### **DIAGNÓSTICO Y TERAPIA CONVENCIONAL DE LAS LESIONES TENDINEAS**

El diagnóstico de estas lesiones es mediante el examen clínico más los exámenes de diagnósticos complementarios que sean necesarios, dependiendo el caso, para así poder llegar a un acabado diagnóstico. Los tejidos blandos están diseñados para poder resistir fuerzas de manera repetitiva y con distintas intensidades, sin sufrir cambios en su estructura y funcionamiento (Romero, 2016). Al sobrepasar su capacidad se lesionan y sanan muy lentamente, quedando un tejido sin las mismas características de elasticidad y fuerza que el tejido original. Uno de los principales dilemas que esta relacionado con las tendinopatías del caballo es intentar evitar esta pérdida de función y para eso se debe realizar una buena elección del tratamiento (Carmona y López, 2011).

La tendinitis se diagnóstica por los signos de calor, aumento de volumen, dolor a la palpación del tendón, con presencia generalmente de claudicación (Romero, 2016). El tratamiento médico convencional que se utiliza hoy en día, incluye el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), glicoadinoglicanos polisulfatados (PSGGs), inyección de corticoesteroides (CS), ácido hialurónico (HA) y de fumarato de  $\beta$ -aminopropionitrilo (BAPN). En los casos de tendinopatía y desmopatía agudas se emplean fármacos combinados con reposo, hidroterapia y vendajes a presión. En la mayoría de los casos se utiliza la monitorización de la lesión con ecografía y un programa de ejercicio controlado (Carmona *et al.*, 2009).

En las dos últimas décadas, la ultrasonografía ha tenido grandes avances en el diagnóstico de patologías en particular en el equino, transformándose en uno de los instrumentos de gran importancia para la detección de alteraciones que no pueden ser detectadas por otros métodos imagenológicos. Esta técnica fue introducida en los caballos durante la década del

70, utilizándose inicialmente en reproducción de yeguas; luego en los años 80, se evaluaron lesiones en tendones, especialmente la del tendón flexor digital superficial (Romero, 2016). Esta técnica permite diagnosticar lesiones subclínicas, siendo de mucha utilidad ya que nos da la información exacta sobre la ubicación, tamaño, forma, dinámica y morfología interna de las estructuras tendineas, además permite seguir la evolución de la lesión para así poder determinar el momento adecuado para que un equino vuelva al entrenamiento (Aguilar, 2015).

Dentro del tratamiento conservador que se pueden aplicar en tendinopatías, está el ultrasonido que tiene efecto sobre la reducción de la inflamación y sobre los procesos de reparación tisular, se ha visto la estimulación de la síntesis y mejora en la alineación de las fibras de colágeno. La crioterapia también es una de las terapias convencionales que son elegidas, produce una vasoconstricción inicial lo que lleva a una disminución del aporte sanguíneo y del metabolismo celular, aunque se puede producir una vasodilatación refleja si la aplicación se mantiene en el tiempo. El hielo además provoca un efecto analgésico sobre las terminaciones nerviosas y una reducción de la temperatura local (Sánchez, 2011).

Las ondas de choque se han convertido en una terapia que ha tenido grandes resultados, los efectos fisiológicos que producen estas ondas de choque no están 100% establecidas, pero si, existen varias hipótesis, la primera es que las ondas de choque aumentan el metabolismo y la vascularización en la zona de impacto favoreciendo la regeneración del tejido. Actualmente uno de los aspectos más estudiados en los efectos de las ondas de choque, es el aumento de la liberación de factores de crecimiento en el sitio de lesión. Este factor contribuiría a mejorar la respuesta de curación (Aguilar, 2015).

### **TERAPIAS REGENERATIVAS EN LESIONES TENDINEAS**

La base de estos tratamientos es el aprovechamiento de los procesos de regeneración que se producen de manera fisiológica en el organismo, mediante la activación y potenciación de gran variedad de moléculas endógenas que intervienen en los mismos, intentando restaurar la funcionalidad del tejido lesionado. Lo que se quiere plantear con estas estrategias para el tratamiento de este tipo de lesiones, es utilizar células y factores que ayuden a la regeneración de la matriz extracelular que conformara el tejido que fue dañado, para que lo hagan de la forma más parecida a la matriz nativa. Por esta razón, en los últimos años ha



existido un aumento en el conocimiento y la administración de terapias que utilizan preparados “autólogos”, los que puedan aportar factores de crecimiento al tejido lesionado como los son el uso de células madres y el PRP (Hernández, 2012).

Finalmente, el caballo además de ser paciente es un animal modelo para el estudio de lesiones en tendones y ligamentos en la especie humana, ya que la naturaleza de las lesiones en los tendones flexores en el caballo son muy similares a las lesiones en el tendón de Aquiles en atletas humanos. Además, que puede ser sometido a procesos de rehabilitación al igual que el humano, pudiendo hacer un seguimiento que es imposible conseguir en otras especies (Romero, 2012).

### **PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP).**

El PRP es una preparación hematológica que se obtiene por centrifugación de la sangre extraída con anticoagulantes del mismo paciente (Carmona y López, 2011). El PRP concentra más de un millón de plaquetas/uL, contiene factores de crecimiento y proteínas que aportan características importantes en la proliferación y diferenciación celular, la angiogénesis y en la síntesis y depósito de matriz extracelular (Delfino, 2015; Peroni, 2017). Según algunos estudios, ayuda a disminuir el proceso inflamatorio, mejora la función biológica del tendón y a reconstituir morfológicamente el tejido lesionado, ayudando a minimizar el tejido cicatricial y la generación de adherencias, usando una variedad de factores que ayudan a la reparación por la promoción de la angiogénesis y proliferación de fibroblastos en el lugar lesionado (Mohamed *et al.*, 2017). Los resultados observados en diversos estudios han sido prometedores cuando se han empleado estas novedosas terapias, pero se debe seguir realizando investigaciones para demostrar el uso clínico seguro y efectivo en equinos (Carmona y López, 2011).

Las plaquetas provienen de los megacariocitos, tienen una vida corta, circulando por el torrente sanguíneo durante solo 7 a 10 días. Su número puede variar dentro de valores considerados normales desde 150.000 a 400.000. Ellas contribuyen a evitar la pérdida sanguínea cuando se produce una lesión vascular. Además, las plaquetas trasladan sustancias que influyen en los procesos de reparación tisular como la angiogénesis,

inflamación y respuesta inmune. Esta actividad se debe a las diferentes proteínas contenidas en sus gránulos (Abellanet, 2009). Cada plaqueta contiene entre 50 a 80 gránulos alfa formados durante la maduración de los megacariocitos y que contienen más de 30 proteínas bioactivas, las que son secretadas en el proceso de agregación durante la formación del coagulo (Faundez, 2010). El calcio es un cofactor necesario para la agregación y la formación de la fibrina, siendo también un regulador en la reparación tisular. Por lo que, la propiedad de las plaquetas es la de secretar un conjunto de proteínas en el lugar de la lesión, induciendo la reparación tisular y la remodelación de la matriz extracelular. En esta última década se han aprovechado las propiedades de las plaquetas, siendo aplicadas en diversas lesiones y en diferentes especialidades médicas y quirúrgicas (Abellanet, 2009).

### **Principales Factores de Crecimiento.**

Las plaquetas liberan gradualmente factores de crecimiento, los que estimulan diversos tipos celulares, promoviendo la proliferación y síntesis de colágeno tipo I. Estos factores son péptidos que funcionan como señalizadores responsables de la regulación del metabolismo celular, esta regulación ocurre por las vías de señalización intracelular gracias a la función de un complejo número de receptores de la superficie celular (Yamada *et al.*, 2016). Dentro de los factores de crecimiento más estudiados está el factor transformante beta (TGF- $\beta$ ), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), entre otros. Sin embargo, el componente que provoca más interés son los factores de crecimiento plaquetarios contenidos en los gránulos alfa, los que se liberan en el proceso de activación plaquetaria. Se ha podido estudiar que ellos constituyen un efecto antiinflamatorio y que además contiene efectos beneficiosos en la aceleración de los procesos de cicatrización de tejidos blandos (Delfino, 2015).

Los factores de crecimiento son polipéptidos contenidos en diferentes tipos celulares y en la matriz extracelular. Estos estimulan receptores de la membrana celular contenidos en las células de los tejidos dañados sin entrar en ellas, provocando reacciones químicas en los neurotransmisores encargados de regular los procesos de reproducción y crecimiento celular favoreciendo la proliferación, migración y diferenciación celular. De todos los factores de crecimiento liberados por las plaquetas, y los que se encuentran en mayor

concentración y cuya estructura y función ha sido ampliamente estudiada son TGF- $\beta$ , VEGF y PDGF, los cuales son responsables de la regulación de procesos celulares tales como la diferenciación, mitogénesis y la quimiotaxis, funciones biológicas claves en los mecanismos de la reparación de tejidos (Delfino, 2015).

Todas estas proteínas promotoras del crecimiento tisular ayudan y favorecen al proceso de curación, removiendo el tejido no vital, aumentando la angiogénesis y evitando la pérdida de matriz extracelular (Faúndez, 2010). En la siguiente tabla (N°1) se pueden ver los principales factores de crecimiento y su función.

TABLA N°1. Principal función de los factores de crecimiento.

<b>Factor de Crecimiento</b>	<b>Función</b>
<b>PDGF</b>	Promueve indirectamente la angiogénesis a través de los macrófagos, por un mecanismo de quimiotaxis. Activador de macrófagos. Mitógeno de células mesenquimales. Facilita la formación de colágeno tipo I.
<b>VEGF</b>	Quimiotaxis y proliferación de células endoteliales. Hiperpermeabilidad de los vasos sanguíneos.
<b>TGF- <math>\beta</math></b>	Quimiotaxis. Proliferación y diferenciación de las células mesenquimales. Síntesis de colágeno por los osteoblastos. Pro-angiogénesis. Inhibe la formación de osteoclastos. Inhibe la proliferación de células epiteliales en presencia de otros factores.
<b>IGF</b>	Proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento. Síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno I por los osteoblastos.
<b>EGF</b>	Mitógeno, proapoptótico, quimiotaxis y diferenciación de células epiteliales, renales, gliales y fibroblastos.

### **Uso de PRP en el tratamiento de lesiones tendineas.**

El uso de PRP como ayudante para el crecimiento tisular ha sido empleado y estudiado en diversas áreas dentro de la medicina. Aunque los mecanismos que mejoran la reparación de las lesiones continúan pobremente descritos, los beneficios reportados en la práctica clínica son la mejora en la regeneración ósea, reducción en el sangramiento, ayuda en la regeneración de tejidos y la ausencia de reacciones exageradas del sistema inmune (Faundez, 2010). Como sabemos el tendón es pobremente vascularizado, siendo su cicatrización muy lenta y muchas veces incierta. Al tener una muy baja tasa metabólica provoca que sea una estructura perfecta para soportar grandes tensiones durante largos periodos de tiempo, pero por el contrario produce que los procesos que necesitan una mayor tasa metabólica se produzcan de manera muy lenta (Sánchez *et al.*, 2009).

Respecto a la elaboración del PRP, hasta el momento se han descrito cuatro técnicas generales para producirlo en equinos: aféresis (automatizada), capa leucocitaria (*buffy coat*), semiautomatizada, capa leucocitaria más filtro y centrifugado en tubo (manual) (Carmona *et al.*, 2009). La diferencia más importante es en la concentración de plaquetas (factores de crecimiento), que se obtiene con los diferentes métodos, por lo cual se hace muy complicado estandarizar los distintos métodos y así tener estudios concluyentes con los cuales podamos comparar los diferentes resultados (Vásquez *et al.*, 2012). Todas las técnicas utilizadas para preparar APCs (Concentrado autólogo de plaquetas) tienen ventajas e inconvenientes, aun no se ha podido encontrar el método ideal para concentrar plaquetas y factores de crecimiento, siendo los métodos manuales los más utilizados, teniendo en cuenta que se necesita un estricto manejo aséptico para evitar la contaminación bacteriana, pero dentro de sus ventajas es la forma más simple de poder obtener APCs y a un bajo costo, mientras que los métodos semiautomizados tienen un mayor costo, al necesitar “kits” y centrífugas especializadas (Carmona *et al.*, 2011).

A modo de ejemplo, se describe el método de centrifugación doble en tubo. Se considera siempre una previa preparación aséptica para la obtención de sangre entera de la vena yugular del paciente mediante un catéter mariposa 23G. La sangre debe ser depositada en tubos de citrato de sodio 3,2% con capacidad para 5 mL. Los tubos con sangre requieren

ser centrifugados a 120g durante cinco minutos. La primera fracción supernadante 50% del plasma, pegado a la capa leucoplaquetaria, es sustraída bajo rigurosa asepsia en una cámara de flujo laminar horizontal. Esta fracción es depositada en tubos sin aditivo y centrifugada a 240g durante cinco minutos. Luego se extrae el 25% del plasma del fondo de cada tubo. Esta última fracción es depositada dentro de jeringas estériles y activada con cloruro de calcio (4,5 mEq/5 ml), a razón de 50µl por ml del PRP (Carmona *et al.*, 2009; Pimenta *et al.*, 2009).

La aplicación consiste en la inyección aséptica del PRP peri e intralesionalmente mediante aguja de 21G guiada por ecografía, siendo los pacientes previamente sedados. La cantidad administrada en cada paciente es determinada en función del tipo, tamaño (cm<sup>2</sup> de área en corte transversal ecográfico) y extensión de la lesión (cm de longitud). Los caballos deben permanecer en reposo y dos semanas después de la última inyección se permite un aumento progresivo del ejercicio en función de la clínica de cada paciente (Pimenta *et al.*, 2009). Cabe señalar que la técnica antes descrita es sólo un ejemplo entre los distintos métodos de obtención de PRP, los cuales pueden mostrar diferencias significativas respecto a las concentraciones plaquetarias, leucocitarias y de factores de crecimiento dependiendo como sean efectuados, lo que nos lleva a la primera dificultad para poder estandarizar los resultados obtenidos al momento de utilizar PRP en los pacientes (Pimenta *et al.*, 2009).

En un estudio realizado en el Hospital Equino de Mallorca a 72 equinos atletas con lesiones del tendón flexor digital superficial, 61 de los cuales presentaban una lesión aguda mientras que 11 pacientes presentaban lesiones crónicas, más la utilización de 10 ejemplares controles, reveló que el retorno a la performance fue significativamente mayor en los ejemplares tratados 75,7 a 79.5% versus los no tratados 40 a 50% y un porcentaje de reincidencia de 20 a 24% en comparación a los controles con un 43 a 93% (Abellanet y Prades, 2009). Sin embargo, otros estudios advierten diferencias poco significativas entre tratar y no tratar lesiones leves en la extremidad distal de equinos, aunque se evidencian mejoras notables en el proceso reparativo frente a lesiones extensas o crónicas (Monteiro *et al.*, 2008).

Casi la totalidad de los estudios realizados acerca de la eficacia de los tratamientos con PRP, coinciden en que se acortan los tiempos de tratamiento y de regeneración celular en casos de desmopatías y tendinopatías en equinos (Michelloto *et al.*, 2009; Pimenta *et al.*, 2009), aunque sin lugar a duda queda mucho por investigar ya que existen variadas diferencias en los resultados y, según señalan algunos autores, todavía no se han realizado estudios de importancia significativa dentro de la medicina basada en la evidencia.

Bosch y colaboradores (2010), evaluaron el efecto del PRP sobre la cicatrización del tendón, usando para ello un modelo experimental equino donde se inducía quirúrgicamente una lesión en el TDFS. Veinticuatro semanas tras la inducción de la lesión se realizó un estudio bioquímico, biomecánico e histológico de los tendones tratados. El estudio demostró que la aplicación de PRP en el tendón lesionado provocó un incremento en la actividad metabólica del tejido cicatrizado, con propiedades biomecánicas e histológicas mejores que los tendones control.

Sobre este mismo modelo experimental, los autores demostraron que los tendones tratados con PRP presentaron al final de estudio, un mayor grado de neovascularización frente a los caballos controles, tras una única administración de PRP. Estos mismos autores aplicaron un análisis computarizado de las imágenes ecográficas del tendón a lo largo del periodo de estudio, para monitorizar el proceso de cicatrización. Empleando esta metodología, se observó que los tendones tratados con PRP, presentaron un aspecto ecográfico de cicatrización más próximo al fisiológico que los tendones control (Bosch *et al.*, 2010).

Los resultados del estudio realizado por Abellanet (2009), demuestran especialmente que en lesiones de tejidos blandos, a mayor número de aplicaciones de PRP, se observa una mejor respuesta clínica y un menor número de recaídas, y que la aplicación de 3 e incluso 4 dosis con un intervalo de 10-15 días sería un esquema apropiado. Este mismo autor indica que algunos biomarcadores anabólicos, declinan 15 días después de la aplicación intraarticular o intrasinovial de PRP en caballos. Como conclusión podemos decir que el PRP, constituye un excelente tratamiento analgésico y antiinflamatorio para las lesiones agudas de tendones, ligamentos, articulaciones y solo existen limitaciones teóricas, que

sugieren su aplicación únicamente en la fase proliferativa de la lesión, especialmente tendinosa.

En el estudio de Maia *et al* (2009), se utilizaron seis caballos clínicamente sanos de edades entre ocho a 15 años, fueron adaptados al lugar de estudio con un mes de anticipación, donde se les indujo una lesión con colagenasa en el tendón flexor digital superficial (TFDS). Se utilizó el método de obtención de PRP de doble centrifugado. La diferencia de este estudio con los anteriores es que los dos miembros anteriores fueron inducidos a tener una tendinopatía, se utilizó el miembro derecho como resultado final con PRP y el izquierdo como control. A estos pacientes además del examen clínico diario, luego del quinto día desde que se aplicó el tratamiento, se comenzó con un ejercicio gradual. Los resultados de este estudio demostraron que los tendones tratados con PRP presentan una mejor calidad de reparación que el tendón no tratado con éste, luego de 36 días de ser tratados con PRP se vio una mayor cantidad de fibroblastos alargados los que indica una mayor madurez, con una reparación más uniforme y organizada comparado con el grupo control (Maia *et al.*, 2009).

El uso de PRP en equinos ha tenido diferentes estudios, en los cuales se ha observado una mejoría clínica y ecográfica de las lesiones tendinosas, pero el problema de los estudios que se han practicado con PRP, es el bajo número de pacientes utilizados y que en algunos estudios no existe un grupo control. Sin embargo, se cree que el tratamiento es seguro ya que, se ha podido demostrar que ninguna de las inyecciones ha provocado reacciones adversas en los caballos tratados (Carmona *et al.*, 2011). Se describió el estudio clínico del uso de PRP obtenido con el método del tubo, en 72 pacientes con tendinopatía del tendón flexor digital superficial, 10 con tendinopatía del tendón flexor digital profundo (TFDP) y 16 con lesiones en el ligamento suspensorio. Los caballos con tendinopatía del TFDS presentaron una mejoría clínica del 80% versus el 45% en el grupo control. Se presentó una recidiva del 22% en los pacientes tratados en comparación con 80% del grupo control. Los caballos con tendinopatía en el TFDP con tratamiento presentaron un 100% de mejoría en contra de un 0% del grupo control y una recidiva del 17% en los caballos con tratamiento. Los pacientes con desmopatía del ligamento suspensor tuvieron una mejoría clínica del

90% versus el 0% del grupo control, los caballos tratados con PRP tuvieron una recuperación en un periodo de seis meses (Abellanet y Prades, 2009).

En el estudio realizado por Hernández (2012), se utilizaron 17 pura sangre de carreras (SPC), entre los dos a seis años, todos ellos con algún grado de lesión tendinea en el TFDS diagnosticada clínica y ecográficamente. Se utilizó el método de centrifugación doble en tubo y se inyectó la muestra de PRP intratendinea eco guiada, la cantidad de muestra para cada ejemplar fue elegida subjetivamente dependiendo el tipo, tamaño y extensión de la lesión. De los 17 animales, siete lograron retornar a un nivel de actividad similar al que presentaban en un principio, los otros 10 casos, la recuperación no fue óptima o al momento de volver a su actividad tuvieron una recaída agravando la lesión. El 47% de los pacientes que retornaron a las pistas fueron tratados en forma distinta, siendo la mitad tratados de manera convencional y la otra mitad con el agregado de PRP a la terapia.

En el estudio realizado por Geburek *et al* (2016), donde se utilizaron 20 caballos que ya presentaban lesión uni o bilateral en el TFDS, con una edad promedio de ocho años siendo desde los cuatro a 21 años de edad, los caballos fueron asignados aleatoriamente al grupo tratado con PRP o al grupo control. Donde se vio una disminución de la cojera en el grupo tratado luego de 8 semanas posterior al tratamiento y 12 semanas en el grupo control. El 80% de los caballos con PRP, alcanzó su nivel de rendimiento anterior o superior a este, luego de 12 meses de realizado el tratamiento, en cambio el grupo control tuvieron un porcentaje de 50% luego de 24 meses desde el comienzo del estudio. Se pudo ver la diferencia entre los caballos que fueron tratados con más rapidez luego de haber sufrido la lesión, donde ellos presentaron mejores resultados en su recuperación.

### **Efectos adversos del PRP**

Los concentrados de plaquetas autólogas se preparan por centrifugación o filtración celular, las muestras de sangre de diferentes caballos y la utilización de diferentes “kits” para la preparación de PRP conducen a diferencias en el contenido de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento. Los contenidos óptimos de plaquetas y leucocitos en PRP son un punto de debate, investigaciones recientes han demostrado que un aumento moderado de



las plaquetas mejora el crecimiento de los tenocitos pero los altos recuentos de leucocitos en PRP pueden afectar el tratamiento de los pacientes (Geburek *et al.*, 2016). Si se concentra mucho las plaquetas, se rompe el equilibrio entre los factores de crecimiento plaquetarios y los plasmáticos, alterando la actividad biológica del conjunto. No se conoce bien el efecto de la presencia de leucocitos en el PRP, pero se concentra 4 o 5 veces las plaquetas y leucocitos, se podría tener más de 40.000 leucocitos/cm<sup>3</sup>, lo que podría provocar efectos indeseados en el paciente tratado, ya que estos son la principal fuente de metaloproteinasas, que destruyen el colágeno. Las plaquetas contienen también metaloproteinasas (MMP), pero además contienen simultáneamente inhibidores naturales de las metaloproteinasas, inhibidores tisulares de las metaloproteinasas en plasma (TIMPS). Este equilibrio MMP/ TIMP es importante para la actividad biológica de las plaquetas y se rompe con la presencia de los leucocitos. Se cree que la clave del efecto regenerativo del PRP está asociada más que con la concentración, con el número de plaquetas vivas que contenga el concentrado plaquetario (Romero, 2016).

### **CELULAS MADRES (MSC)**

La terapia celular, es uno de los más recientes enfoques de la medicina regenerativa que tiene como objetivo la sustitución o reparación de órganos y tejidos (Scipioni, 2011), utilizando células madres del mismo paciente, surge como un método innovador pudiendo conseguir resultados prometedores en comparación con los resultados de la medicina tradicional (Peroni, 2017). La terapia con células madres se considera un campo altamente dinámico y que aún no se ha podido estudiar por completo, poder evaluar el uso de células madres exógenas y su falta de habilidad para poder generar tenocitos y/o células progenitoras que se ocuparan de la regeneración de tendones, es probable que las citocinas secretadas por las células madres son las que contribuyen en la cicatrización y regeneración de los tejidos (Durgam y Stewart, 2017). El uso clínico de las células madres en medicina veterinaria aún está en sus primeras etapas, se siguen estudiando los beneficios de los diferentes caminos que se puede utilizar, para evaluar cuál es el más efectivo según su origen celular, aislamiento, enriquecimiento y procesamiento, además del tiempo que se necesita para procesarlas, la ruta de administración, y la dosificación (Fortier y Travis, 2011).

La célula madre adulta, actúa a través de estímulos para la liberación de más de 200 sustancias diferentes como factores de crecimiento, citoquinas, etc., representando un método prometedor para poder obtener tenocitos *in vitro* para la curación de lesiones en los tendones de los equinos, con propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladora y regeneradoras, las que actuarán dependiendo de las condiciones de la lesión (Scipioni, 2011; Peroni, 2017; Villatoro y Fariñas, 2017).

Estas células son aquellas no diferenciadas o multipotenciales, pudiendo ser precursores de células especializadas en tejidos específicos (Scipioni, 2011). En el desarrollo embrionario temprano se genera el mesodermo desde la masa celular interna del blastocito con algunas de estas células madres embrionarias (Senner *et al.*, 2012). Estas células tienen doble capacidad, diferenciación y auto renovación, siendo reguladas por las células específicas de su ambiente (Scipioni, 2011). Ellas presentan dos tipos de divisiones, la simétrica y asimétrica. La característica de autorrenovación viene dada por la división simétrica donde se dividen para generar dos células hijas que tienen la característica de mantener las propiedades de la célula madre. Mientras que la división asimétrica da lugar a células progenitoras en un estado más diferenciado que la célula madre inicial, mostrando la capacidad de diferenciación (Ranera, 2012). Además de estas características, las células madres mesenquimales tiene la capacidad de diferenciarse en el trilineaje siendo éste osteoblastos, adipocitos y condroblastos, utilizando cultivos *in vitro* para la diferenciación hacia cada linaje. El estímulo necesario para la diferenciación de las MSC en tenocitos, es en gran parte desconocido, pero investigaciones actuales sugiere que una combinación mecánica de tensión, señales metabólicas, contacto celular y con la matriz, con los factores esenciales para que se lleve a cabo el proceso (Scipioni, 2011).

El papel terapéutico de las células madres en el proceso de regeneración en la medicina, no se entiende completamente. No está claro si las células madres funcionan de mejor manera cuando están diferenciadas en un tejido en específico o tienen mejores resultados a través de la secreción de factores tróficos, como inmunomoduladores y factores bioactivos o con una combinación de los dos mecanismos (Fortier y Travis, 2011).

Estudios como el de Godwin *et al* (2011), muestran una disminución significativa en la tasa de recurrencia de tendinitis, por un periodo de al menos dos años en un 26% en animales tratados con MSC y un 56% los que fueron tratados solo con terapias convencionales. Se ha observado que el resultado general de estos estudios mostró que las recidivas tienden a aparecer con menos frecuencia, cuando se aplica una mayor cantidad de MSC (por lo menos alrededor de  $1 \times 10^7$  MSC) o cuando los pacientes son más jóvenes, además actúan mejor cuando se disminuye el tiempo entre la ocurrencia de la lesión y la aplicación de células (Godwin *et al.*, 2011).

### **Tipos de Células Madres**

Las células madres se pueden clasificar según su diferenciación siendo totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales y somáticas, o clasificarlas según su origen de procedencia, como las células madres embrionarias que son clasificadas como pluripotentes, además de poder proliferar continuamente al mantener su estado indiferenciado, lo que le confiere el beneficio de pasar desapercibidas por el sistema inmune. Las células madres germinales están en la cresta gonadal de los fetos, son muy parecidas a las anteriores pero su aislamiento resulta más difícil. Las células madres fetales forman parte de los órganos fetales, su potencial de diferenciación es similar a las células madres adultas, aunque tienen mayor capacidad de poder expandirse y diferenciarse al ser un poco más primitivas (Ranera, 2012; Romero, 2016). Las últimas células son las células madres adultas, las cuales son capaces de diferenciarse *in vivo*, replicando las células de los tejidos adyacentes. La mayor fuente de extracción son los tejidos de médula ósea, se conocen cerca de 20 tipos celulares, entre las que se encuentran las células madres hematopoyéticas y las mesenquimales (Scipioni, 2011; Ranera 2012).

La terapia con MSC tienen la característica de ser inmunomoduladora, por lo que se han estudiado el uso de células madres alogénicas además de las autógenas. Estas células alogénicas suponen un potencial terapéutico mayor que las autógenas, ya que tendríamos una terapia con mayor disponibilidad y de rápida implementación, el problema de poder utilizarlas es que aumentan los costos de la terapia, no en la cosecha ya que sería la misma que en las células autógenas, pero si se generan gastos adicionales al garantizar que el

producto este libre de algún patógeno y además se debe tener la implementación para poder almacenarlas hasta que sean utilizadas (Fortier y Travis, 2011).

Recientemente, se ha publicado que las MSCs alogénicas pueden provocar una respuesta inmune que genera rechazo. Aunque las MSCs no pueden considerarse verdaderamente inmuno-privilegiadas, el rechazo de las MSCs alogénicas se produce más lentamente que el rechazo de otros tipos de células alogénicas lo que beneficia la terapia. El momento y el peligro al rechazo parece estar estrechamente vinculado al ambiente y está dado por un equilibrio entre la expresión de factores inmunogénicos e inmunosupresores de las propias células. Este hecho podría explicar la falta de supervivencia observada tras su aplicación *in vivo* (Ankrum *et al.*, 2014).

En el estudio de Watts *et al* (2011), no se encontraron efectos adversos, no siendo lo que se esperaba al utilizar células alogénicas fetales, pero se demostró que la densidad celular reducida, la falta de infiltrado inflamatorio, mínima reacción peri tendinosa, muestran un mínimo de reacción frente a las células alogénicas sin existir una terapia inmunosupresora. Se sigue sugiriendo la falta de tiempo y de pacientes en estudio para poder rechazar algunas teorías como la formación de teratomas, por la aplicación de células fetales. Siendo la conclusión de este estudio, demostrar la eficacia de las células madres pluripotentes en tratamiento de lesiones tendíneas. Aunque exista una baja en la supervivencia a largo plazo de estas células fetales, se vieron resultados significativos en la parte histológica como en las ecografías realizadas, teniendo como resultado que las células pluripotentes generarían una mayor regeneración sobre una cicatrización del tendón afectado, incluso sin llevarlas a un linaje *in vitro* previo a la inoculación.

### **Principal Fuente en mamíferos**

El tejido adiposo como fuente de MSC es beneficioso, ya que pueden estar disponibles en grandes cantidades con una mínima morbilidad y malestar asociado a su recolección, la grasa coccígea en la base de la cola, es el sitio más accesible, llevando a cabo el procedimiento con sedantes y anestesia local (Nixon *et al.*, 2008). Para poder utilizar MSC desde el tejido adiposo, se utiliza el subcutáneo del paciente en el sector del glúteo cercano

a la cola del equino, donde se aísla por digestión de colagenasa tipo I, se lavan con PBS y se siembran con densidad de 100.000 células mononucleadas por cm<sup>2</sup>. Se mantuvieron en *dulbecco modified eagle's médium* (DMEM) bajo en glucosa, suplementado con 1% de L-glutamina, 1% de eonicilina/estreptomicina y 10% de suero fetal bovino (FBS). Luego de la extracción a las 24, 48 y 72 horas, se lavan las células con tampón fosfato salino (PBS), para poder eliminar las células no adherentes. Se mantienen a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub> y 20% de O<sub>2</sub> y con un cambio de 5% de O<sub>2</sub> para las otras muestras. Se expandieron las células, haciendo cambios de medio cada 3 días, hasta alcanzar el 80 % de confluencia (Ranera, 2012).

Estas células son inmunocompatibles, el aislamiento de la fracción de células nucleadas desde la grasa, da un pool de células para su inmediata inyección en el lugar de lesión o para generar cultivos y poder aislar células madres derivadas de tejido adiposo (Scipioni, 2011). Según Nixon *et al* (2008), el inyectar MSC derivadas de tejido adiposo, no tuvo efectos adversos. Las células madres derivadas de tejido adultos contribuyen a la recuperación indirecta, por la producción de proteínas bioactivas, como factores de crecimiento, factores anti-apoptóticos y agentes quimiotácticos, los que ayudan y estimulan al crecimiento interno vascular y el reclutamiento de células madres. Las células de la fracción vascular estromal derivadas desde el tejido adiposo, estas células AD- SVF son simplemente aisladas e inyectadas en el paciente sin pasar por el cultivo celular, tiene esta ventaja de poder usarlas con mayor rapidez.

Las células madres mesenquimales derivadas de medula ósea BM- MSCs, tiene la ventaja de ser fáciles de obtener y una obtención relativamente no invasiva, además tienen una mayor capacidad para diferenciarse en tipos de tejidos de musculo esquelético, alguna de las desventajas son el tiempo requerido para la expansión de las células, que va desde 3 a 6 semanas desde el aspirado de la medula hasta poder ejecutar el tratamiento. Estudio de Fortier y Travis (2011), demuestran que la aplicación clínica de BM- MSCs con casos y controles (n=11), mostro que el 90% de los caballos tratados tuvo éxito y pudo regresar a su función atlética, los caballos de carrera no generaron recidiva en las lesiones del TFDS luego de 2 años del tratamiento (Fortier y Travis, 2011).

Las células BM- MSCs se empezaron a utilizar en el siglo XXI, estas células fueron suspendidas en sobrenadante de médula ósea autóloga, para el tratamiento de lesiones tendinosas centrales espontáneas en el TFDS, tras el tratamiento no se observaron reacciones adversas ni formación de tumores. Las formas de células madres más utilizadas por los médicos veterinarios en lesiones de equinos son dos, la primera son derivados de médula ósea adulta y la segunda son los derivados del tejido adiposo. Cualquiera de estas fuentes de células se utilizará después de un periodo de cultivo o luego de centrifugación. Las células derivadas de médula ósea se extraen del esternón o del íleon, utilizando una aguja Jamshidi (Taylor y Clegg, 2011). Por su lado, el tejido adiposo contiene una fracción vascular estromal, siendo una fuente rica de células madres derivadas del tejido adiposo, se cree que el tejido adiposo es una fuente mas accesible y con cantidades abundantes de MSC para realizar una terapia celular (Scipioni, 2011). Según Godwin *et al* (2011), los que realizaron un estudio con 141 caballos tratados con BM-MSCs y con un seguimiento de 3 años, demostraron una disminución significativa de la recidiva en caballos de carrera.

Las conclusiones sacadas por el estudio de Ranera (2012), nos demuestran que el tiempo entre la extracción de la médula ósea y el aislamiento de BM-MSCs, disminuye la formación de CFU en cultivo, además las AT-MSCs tienen mayor capacidad de proliferación en cultivo. Existe una diferenciación más rápida hacia osteocito y condrocito desde las BM- MSCs. La generación de hipoxia influye en la división celular de las BM-MSCs y en la viabilidad de AT- MSCs, dando un número menor de células. Se demuestra que al tener un ambiente de mayor hipoxia se potencia la capacidad de diferenciación celular hacia condrocito.

Ningún estudio con animales mayores ha demostrado diferencias medibles en los parámetros, aparte de las pequeñas mejoras que existen en la clasificación histológica. En el estudio de Watts *et al* (2011), los tendones tratados con células fetales MSC tienen una mejora estructural significativa en la resonancia magnética y en el ultrasonido, esto en comparación de los tendones con placebo. A si se vio que los tendones tratados con MSC fetales tenían mejor relleno en sus lesiones y con mejor retorno a un orden de fibra lineal,

siendo el desarrollo de un mejor patrón lo más predictivo para tener un resultado exitoso a largo plazo. El único problema encontrado en este estudio es el corto plazo que se dio para evaluar el avance de la lesión. A pesar de tener una muestra pequeña, varios parámetros fueron significativamente diferentes entre los grupos pese al poco tiempo. La falta de diferencias significativas en los parámetros como el ADN total y la expresión génica, debería tener más relevancia para así poder ser más específico en el momento de evaluar una diferencia (Watts *et al.*, 2011).

Las mejoras en los hallazgos en tendones tratados con MSC fetales y la falta de diferencia en los parámetros bioquímicos, sugieren que el efecto predominante de las MSC fetales en la curación del tendón es a través de la organización estructural del tendón, en lugar de una mejora en el número de célula o la expresión de genes, pero se cree que el proceso de curación es un proceso muy lento que normalmente tarda hasta 18 meses en ocurrir, por lo tanto es muy probable, que este estudio haya quedado lejos del tiempo necesario para poder cumplir con la curación completa y es posible que las diferencias génicas se verían en ensayos de mayor duración. Aunque no existía una diferencia estadísticamente significativa en el contenido total de ADN determinado por flurometria, se vio menor contenido de ADN en los tendones tratados con MSC fetales, esto podría ser posible si las células inyectadas en la lesión fallaran o la segunda posibilidad, que estas mismas células inyectadas produzcan un tendón con menor celularidad, pero más funcional que el original, esta idea es corroborada por los hallazgos histológicos que indican que los tendones con MSC fetales son menos celulares (Watts *et al.*, 2011).

En un estudio protagonizado por Nixon *et al* (2008), se utilizaron 8 caballos clínicamente sanos a los cuales se les indujo una tendinitis en el TFDS en uno de sus miembros anteriores, 7 días después de la injuria se introdujeron  $10,83 \times 10^6$  células madres que fueron extraídas del tejido adiposo de cuatro de estos miembros. Luego de 6 semanas se realizó una biopsia en los tendones tratados, para generar un estudio histológico, donde se vio que los tendones tratados presentaban mayor organización de las fibras de colágeno que los caballos del grupo control. Además de poder ver con análisis inmunohistoquímicos que existe una menor expresión de colágeno tipo III en los tendones que fueron tratados en

comparación a los tendones control, y mayor expresión de colágeno tipo I. Contrastando los resultados del estudio anterior, se puede ver que el estudio realizado por Crovace *et al* (2010), donde se realizó un estudio histológico e inmunohistoquímico en seis caballos, tratados con células madres estromales, células madres mononucleadas de médula ósea y el grupo control. Se vio que los tratamientos con células madres tuvieron una mayor presentación de colágeno tipo I y menor presentación de colágeno tipo III comparados con el grupo control.

El estudio realizado por Smith (2008), evaluó el comportamiento de 168 caballos con lesión en el TFDS los que fueron tratados con células mesenquimales autólogas, luego de 48 semanas de rehabilitación los caballos retornaron a un entrenamiento progresivo, donde se presentó una recidiva del 18% de todos los caballos, versus un 56% de recidiva en los caballos que fueron tratados solamente con terapias convencionales. Unos años más tarde, un estudio realizado por Gutierrez- Nibeyro (2011), en donde utilizaron 53 equinos de carrera con lesiones en el TFDS y desmitis en el ligamento suspensor, los cuales fueron tratados con células madres extraídas de tejido adiposo, se pudo observar que, el 60% de estos caballos retornaron a sus actividades deportivas, de los cuales 7 caballos sufrieron recidiva luego de 18 a 24 meses después del tratamiento inicial.

Otro estudio demostró que las células madres mesenquimales derivadas de médula ósea equina, pueden ser inducidas a diferenciarse a tenocitos (Violini *et al.*, 2009). Existen limitaciones con el uso de las células madres en las terapias regenerativas, el problema más comentado por los estudios clínicos es la baja eficiencia de estas células para la diferenciación de líneas celulares adultas, por esta misma razón es necesario una previa expansión *in vitro* para poder conseguir una cantidad significativa de células, siendo este paso muy lento, caro y con riesgo de contaminación y pérdida celular (Scipioni, 2011).

### **Diferenciación a tenocito**

Se han utilizado diferentes factores para estimular la diferenciación de las BM-MSCs a ligamento y tendón. Se han realizado co-cultivos con fibroblastos o estimulación con diferentes factores de crecimiento desarrollando el cultivo en dos o tres dimensiones.



También se ha conseguido inducir la diferenciación de las MSCs a tenocitos mediante la exposición a proteína morfogenética ósea 12 (BMP-12), a bajas dosis del factor de crecimiento (bFGF). Se ha demostrado también que el GDF-5 aumenta la expresión de colágeno tipo I y escleraxis (SCX) en las MSCs. Estas dos proteínas están involucradas en proceso de diferenciación tenocítica. Además, y puesto que el microambiente que rodea a las células es fundamental para la diferenciación de las MSCs a diferentes linajes celulares, se han publicado recientemente ensayos de co-cultivos de células, para inducir la diferenciación mediante la estimulación por factores paracrinos secretados por las células. En caballos el co-cultivo de BM-MSCs con implantes de tendón proveniente de caballos sanos, estimula la expresión de marcadores específicos de tendón como decorin, tenomodulin, tenascin C y colágeno Tipo I por parte del MSCs, manteniendo un fenotipo similar a tenocitos en cultivo monocapa (Violini *et al.*, 2009; Lovati *et al.*, 2012)

Guest *et al* (2010) realizó una investigación en 8 caballos con lesiones en el TFDS, los que fueron divididos en dos grupos, tratados con células embrionarias alogénicas o con células mesenquimales estromales alogénicas, donde se vio que las células embrionarias tuvieron una supervivencia de 60% en cambio las células mesenquimales menos del 5%, en el lugar de la lesión, además las células embrionarias alogénicas no presentaron ninguna respuesta inmune que afectaran al proceso de regeneración de la lesión.

En un estudio reciente de Oliva (2017), provocó el potencial de diferenciación tenogénica *in vitro* de las células madres mesenquimáticas derivadas de médula ósea fetal equina. Donde se aislaron MSC, comprobando el tipo de célula, por la capacidad de adherencia que tiene este que no lo comparte con el resto de células presentes en la médula ósea, lo que permite poder seleccionarlas. Se ha reportado que las células expuestas a concentraciones de 10 a 40 ng/mL de BMP-12, adquieren un cambio morfológico alrededor del día 28 de cultivo (Mohanty *et al.*, 2014). En dicho estudio se vio que la suplementación con el factor de crecimiento BMP-12 en MSC fetales equinas durante 21 días, puede disminuir los niveles de mRNA de SCX gen asociado con el tendón, lo que no permite que se produzca la transcripción del gen TNMD (Tenomodulina). Pero en este estudio, si se vio un aumento de la expresión de DCN (Decorina) en MSC fetales equinas al día 21, de manera más rápida que el crecimiento de este mismo en MSC adultas. La evolución del potencial

terapéutico de la MSC equinas fetales, requieren de estudios posteriores *in vivo* que permitan determinar el real efecto regenerativo o reparativo que estas células pueden tener en lesiones de tendón.

## **OBJETIVO GENERAL**

Describir las terapias regenerativas, PRP y células madres en la tendinopatías del equino de deportes.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir la terapia a base de PRP en la tendinopatía del equino de deportes.
2. Describir la terapia a base de células madres en la tendinopatía del equino de deportes.
3. Comparar la efectividad clínica de la terapias regenerativas PRP y de células madres en la tendinopatía del equino de deportes y proponer mejoras alternativas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **MATERIALES**

Búsqueda de la información:

Para la realización de esta monografía, se realizó la búsqueda de información bibliográfica desde la biblioteca virtual de la Universidad de Chile; publicaciones en libros, Catálogo de Bello, y variadas revistas científicas. Junto a lo anterior complementariamente se utilizó artículos científicos, libros, tesis, memorias o seminarios de título, provenientes de textos impresos o electrónicos.

Se realizó en primera instancia una búsqueda y recopilación de antecedentes sobre las terapias regenerativas, en especial el PRP y células madres, en equinos de deporte para su posterior organización y mejor comprensión. Se emplearon para la compilación los sitios de búsqueda ScienceDirect, Google Scholar, Scielo.org, Pub Med, Medline.

Para la búsqueda de artículos en las bases de datos se usaron las siguientes palabras claves:

- Medicina reparativa
- Medicina regenerativa
- Tendinopatías en equinos
- Tendinitis en equinos
- Plasma rico en plaquetas
- Células madres
- *Regenerative medicine*
- *Stem cells in horses*
- *Tendinopathies in horses*
- *Platelet rich plasma*

La revisión y selección de los artículos publicados se realizó sobre la base de título, fecha de publicación y autor. Los criterios de selección para la búsqueda de artículos fueron:

- Equinos
- Medicina veterinaria

### **Criterios de exclusión:**

1. Se excluyeron publicaciones de antigüedad mayor a 10 años, a excepción de publicaciones que contenían información relevante para el desarrollo de esta monografía y que no se encontraron en publicaciones más recientes.
2. Se excluyó la información de publicaciones que no fueron atingente para cumplir con los objetivos específicos planteados previamente.

### **MÉTODOS**

Primero se realizó una recopilación de la información existente sobre las terapias regenerativas, el uso y resultados obtenidos con la utilización de plasma rico en plaquetas y células madres en las patologías de tendones en equinos de deporte, todo esto para poder tener una mayor comprensión del papel, que hoy en día, tienen las terapias regenerativas en el tratamientos de tendinitis en equinos.

#### **Organización de antecedentes y redacción:**

Se organizó la información recopilada dividiéndola en los trabajos realizados con terapias regenerativas, pudiendo separar los que utilizan PRP y células madres.

Los antecedentes fueron organizados en los siguientes ítems:

- I. Introducción
- II. Fisiología de los tendones y su reparación frente a injurias: se analizó la estructura, composición, función de los tendones más importantes en los equinos y como ellos reparan naturalmente frente a una lesión.
- III. Terapias regenerativas: se analizó las características de una terapia regenerativa frente a una reparativa, y cuáles son los beneficios que le pueden dar a una lesión tendineas en equinos de deporte.
- IV. Células madres y PRP: se analizaron cada una de estas terapias y los resultados que se obtienen al utilizarlas en lesiones tendineas

- a. Se describió la terapia a base de PRP en la tendinopatía del equino de deporte
- b. Se describió la terapia a base de células madres en la tendinopatías del equino de deporte.
- c. Se comparó y analizó la efectividad de cada una de las terapias nombradas, en las patologías tendineas en equinos de deporte para proponer mejoras alternativas.

V. Presentación de resultados.

### **Análisis crítico**

Los documentos revisados fueron ordenados en tablas o esquemas, donde se indicó el tipo de bibliografía, el número, fechas y los temas planteados.

Se realizará un análisis crítico de toda la información, resultados positivos y negativos con la utilización de las distintas terapias regenerativas, rescatando los beneficios de cada terapia hacia la curación del tendón. Este análisis fue en base a: autor, año de publicación y relevancia de la publicación.

### **Presentación de resultados**

La presentación de resultados incluyó las conclusiones en cada uno de los parámetros evaluados, lo que nos permitió tener una mejor comprensión del beneficio de cada terapia regenerativa y así poder tomar las mejores decisiones al momento de implementar alguna de estas terapias como complemento a la terapia clásica, de acuerdo a la experiencia de los autores y publicaciones citadas.

## RESULTADOS

El material bibliográfico consultado para la realización de esta memoria fue el siguiente:

- Revistas científicas: 30
- Congresos y simposios: 4
- Tesis: 11
- Páginas de Internet: 2

La información detallada del desglose de los términos seleccionados anteriormente en la parte de materiales y métodos queda explicitado en las siguientes tabla:

Tabla N° 1: Evaluación de las terapias regenerativas, plasma rico en plaquetas y células madres, en las patologías de tendones en equinos de deportes según material bibliográfico consultado.

<b>PALABRAS</b>	<b>Revistas Cientificas</b>	<b>Congreso</b>	<b>Tesis</b>	<b>Paginas Web</b>	<b>Total</b>
<b>Medicina Regenerativa</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>6</b>
<b>Plasma Rico en Plaquetas</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>16</b>
<b>Celulas Madres</b>	<b>16</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>22</b>
<b>Terapias Autologas</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>5</b>
<b>Terapias Alogenicas</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>
<b>Tendon Flexor Digital Superficial</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>14</b>
<b>Tejidos Blandos</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>6</b>
<b>Caballos de Deporte</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>8</b>

Según lo indicado en esta tabla, la principal fuente de información bibliográfica referente a las terapias regenerativas son las revistas científicas y las tesis. Dentro de estas dos teorías, la que resultó tener mayor información es la terapia con celula madre, siendo la más estudiada la terapia con células autologas. La mayoría de los textos encontrados se asociaban a tendinopatias en el tendón felxor digital superficial y en menor porporción a otros tipos de tejidos blandos.



## DISCUSION

La mayoría de los autores coincide en que la terapia a base de PRP en las tendinopatias en equinos de deporte, genera una mayor eficacia en la recuperación de las lesiones en tejidos blandos, acortando los tiempos de tratamiento y de regeneración celular (Michelloto *et al.*, 2009), sin embargo, no sustituye ni disminuye el tiempo de la rehabilitación fisiológica de los tejidos, sino que constituye un método terapéutico complementario que influye positivamente en los resultados (Gutiérrez-Nibeyro, 2011; Arias y Beatos, 2013). La bibliografía está de acuerdo en que, si bien, es cierto que el uso de este tipo de terapia regenerativa ha tenido variados estudios, en los cuales se ha visto una mejoría clínica y ecográfica en las lesiones tendinosas, sin lugar a duda, se requiere mayor cantidad de estudios *in vivo* y con una mayor cantidad de pacientes, para poder evaluar de mejor manera los resultados obtenidos (Carmona *et al.*, 2011). La terapia a base de células madres se ha visto como una terapia fácil de utilizar, pero con la limitante de la diferenciación de líneas celulares adultas a tenocitos como constituyentes del tejido tendineo, a pesar de esto, se ha visto una mejoría en los tratamientos de tendinopatias en equinos de deporte, dado por una mayor organización de las fibras de colágeno, una mayor expresión de colágeno tipo I en los tendones tratados y un menor porcentaje de recidiva, lo que muestra el beneficio de la utilización de esta terapia regenerativa en estas lesiones (Nixon *et al.*, 2008).

En estudios realizados por Abellanet (2009), Abellanet y Prades (2009), y Geburek *et al* (2016), revelan que el desempeño deportivo es significativamente mayor cuando los caballos son tratados con PRP en las lesiones tendineas, siendo un 76%-80% los tratados versus el resultado de los no tratados con un porcentaje de 40%-50%. En cambio en el estudio generado por Hernandez (2012), fueron tratados 17 caballos con lesión en TFDS de los cuales el 41% pudo volver a su actividad normal y el 59% de los caballos tratados no pudieron volver a su entrenamiento o tuvieron una recaída que empeoro la lesión inicial, lo cual podría atribuirse a que este último estudio incluyó solo ejemplares de carrera, los cuales al momento de reinscripción a su actividad atlética vuelven a un nivel de exigencia máxima, sin embargo, los trabajos de Abellanet (2009); Abellanet y Prades (2009); Geburek *et al* (2016), al usar caballos de diferentes disciplinas deportivas algunas de ellas

como el adiestramiento o montura, requieren un menor nivel de exigencia atlética lo que podría explicar la menor recidiva de estos animales experimentales.

Por otra parte, los diferentes resultados observados en las terapias con PRP se pueden deber a muchas variables, sin embargo, factores como extensión de la lesión y tiempo de evolución, parecen ser elementos relevantes en el resultado final (Abellanet y Prades, 2009). Así, se observa en un estudio realizado por Maia *et al* (2009), quienes aplicaron PRP en dos oportunidades, obteniendo una mejora en las extremidades tratadas con PRP en comparación con las extremidades control, generando como resultado una reparación más organizada y uniforme, sin embargo, se debe tener en cuenta que este estudio se realizó con intervalos más prolongados entre las evaluaciones histológicas y con mayor número de inyecciones de PRP, en relación a otros estudios como el de Hernández (2012), quien trabajó con una sola aplicación de PRP, por lo que, el número de aplicaciones podría ser un factor importante en los resultados.

Es importante destacar lo señalado por numerosos autores, en el sentido de la mayor velocidad de reparación de los tendones lesionados, tratados con PRP versus los no tratados, o tratados con las terapias convencionales, como se demuestra en el estudio de Geburek *et al* (2016), donde los caballos tratados con PRP necesitan un tiempo de 8 semanas para remitir la cojera, siendo mucho más rápido que los caballos controles los cuales tomaron sobre 12 semanas. Esto se explicaría por el efecto que tiene el PRP sobre el aumento de la actividad metabólica del tejido cicatrizado (Bosch *et al.*, 2010), a las 24 semanas luego de la inducción de la lesión y del comienzo del tratamiento se ve una mejora en las propiedades histológicas y biomecánicas en los tendones tratados, comparados con el tendón control y una mayor neo vascularización lo que ayuda a la mejor regeneración de la lesión. Este fenómeno también se observa en el tratamiento con células madres (Godwin *et al.*, 2011).

De acuerdo a la bibliografía estudiada, las células madres han demostrado ser una gran herramienta en la terapia celular, debido a su potencial de diferenciación y a su capacidad de auto renovación. La plasticidad que presentan estas células a la hora de diferenciarse, las

hacen idóneas para reparar y regenerar los tejidos dañados. Según el estudio realizado por Smith (2008), Godwin *et al* (2011), y Gutiérrez-Nibeyro (2011), la utilización de MSC autólogas sustraídas desde medula osea, muestran una disminución significativa en la tasa de recurrencia o recidiva en las lesiones tendineas de un porcentaje de 18%- 27% en los animales tratados, en comparación al grupo control de un 56%-57%. Los resultados de estos autores son similares, teniendo solo diferencias en la cantidad de pacientes tratados, desde seis caballos en el estudio de Godwin *et al* (2011), hasta 113 caballos de Gutiérrez-Nibeyro (2011), a pesar de esto los porcentajes obtenidos son semejantes, lo cual se debería a que todos ellos utilizan células madres de medula osea, y estandarizan el programa de rehabilitación con un seguimiento a dos años para ver el porcentaje de recidivas.

Un factor importante es el efecto en relación al origen de la células madres usadas en la terapia tendínea, si bien el resultado clínico es similar, a pesar de ser obtenidas desde medula osea o de tejido adiposo, las derivadas de este último no han mostrado tener efectos adversos que perjudiquen el tratamiento, además del beneficio de tener una rápida obtención, ya que solo necesitan ser aisladas e inyectadas en el paciente sin tener que pasar por un cultivo celular (Nixon *et al.*, 2008; Gutiérrez-Nibeyro, 2011), así mismo, las células madres obtenidas desde medula osea son de fácil obtención, tiene mayor capacidad de diferenciarse, pero el tiempo y el tratamiento que se requieren para su expansión es mucho mayor, lo que encarece el tratamiento, estos factores debieran ser considerados al momento de decidir la forma de obtención de las células madres. Estos autores coinciden en la misma idea, que el uso de tratamientos regenerativos independiente del origen de las células, mejoran la organización de las fibras de colágeno obteniendo una mejor alineación, observado en el estudio histológico. Esto último se ha observado mediante estudios inmunohistoquímicos, donde se muestra una mayor expresión de colágeno tipo I en comparación al porcentaje de expresión de colágeno tipo III, lo que ocurre de manera completamente opuesta en tendones que son tratados de manera convencional (Nixon *et al.*, 2008; Corvace *et al.*, 2010; Godwin *et al.*, 2011; Gutiérrez-Nibeyro, 2011).

Dentro de los factores reportados como respuesta a la aplicación de células madres está el aumento observado en la vascularización de los tendones tratados, en este sentido es

posible extraer de la bibliografía revisada aspectos relevantes y que podrían tener una repercusión en los resultados clínicos de estas terapias. Bosch *et al.* (2011), Carvalho *et al* (2013), señalan que el aumento observado en la vascularización de los tendones tratados con MSCs entre las 16 - 23 semanas, podría ser un factor determinante a la hora de explicar el efecto a largo plazo de estas células, a pesar de la aplicación de un solo tratamiento, lo cual sería un hallazgo positivo durante las fases tempranas del proceso regenerativo. Sin embargo, estas aseveraciones se contraponen a lo señalado por Romero (2016), quien señala que lo observado en un estudio realizado hasta las 45 semanas, tiempo en el que el proceso de cicatrización se encuentra en fase de consolidación, muestra que la existencia de una alta vascularidad es indicativo de una peor regeneración, dado fundamentalmente por la muerte de las células madres en este periodo de tiempo. De lo anterior es posible inferir que sería adecuado en cierto periodo post tratamiento inicial, la reinyección de células madres en la fase de reparación de consolidación de esta. A pesar de ello, aun no es posible de acuerdo a la información bibliográfica obtenida, señalar en forma exacta el periodo en el cual debiera realizarse esta segunda inoculación.

Según Romero (2016), la administración temprana de MSC tiene mayores ventajas que un tratamiento tardío, cuando el tejido cicatricial fibroso ya se ha formado, siendo una de las soluciones propuestas para este problema el uso de células mesenquimales alogénicas, las cuales son expandidas previamente y congeladas. Este tipo de células, acortan considerablemente el tiempo de espera desde que el caballo se lesiona hasta que se puede aplicar el tratamiento regenerativo con MSC, pasando de tres semanas en promedio el tiempo de espera para las células autólogas, a unos diez días en el caso de las células alogénicas, de acuerdo a la información revisada esto constituiría un factor importante a considerar, sin embargo, se requiere de mayor cantidad de estudios que confirmen dicha aseveración, así mismo, el uso de productos alogénicos debe tener en cuenta el potencial aumento del riesgo de transmisión de la enfermedades al paciente, por lo cual debería ser otro punto a considerar dentro de la investigación y los costos extras que esto generaría (Gutiérrez-Nibeyro, 2011).

En relación a lo señalado anteriormente, existen estudios donde se ha podido evaluar que no existen efectos adversos utilizando células alogénicas fetales, a pesar de esto, los mismos autores señalan que es de suma importancia tener mayor tiempo y pacientes para poder generar un estudio con mayor variabilidad y así poder aceptar o rechazar teorías, como la de formación de teratomas con la aplicación de células fetales (Watts *et al.*, 2011), este mismo autor, demostró que los tendones tratados con células madres fetales generan una mejora estructural, tanto en los estudios ecográficos como de resonancia magnética en comparación con los tendones tratados con placebo, además se observó un mejor patrón de fibras lineales en la curación del tendón, esto permite asumir que se tendría un resultado exitoso a largo plazo, sin embargo, esto aún no es posible confirmar, ya que el proceso de curación tarda normalmente 18 meses y no existen trabajos realizados en este periodo de tiempo que permitan asegurar lo anterior.

Aún existen varios problemas que se deben resolver para generalizar el uso terapéutico de la células madres en la patología tendinea, uno de ellos es lo observado en estudios clínicos de las MSC autologas, donde la baja eficiencia de estas células para diferenciarse hacia líneas celulares adultas constituye una desventaja, se cree que es necesario la expansión *in vitro* de ellas, para así poder tener una cantidad significativa de células que permita generar un buen tratamiento, el problema de esto es que es un proceso de mayor costo, mayor lentitud y con algunos riesgos asociados a la contaminación. Estudios recientes han utilizado factores para aumentar la diferenciación, utilizando factores de crecimiento como el BMP-12 o bFGF, así Oliva (2017), trabajando con MSC desde medula osea fetal concluyo la disminución de SCX (marcador relacionado con la regeneración del tendón), lo que no permitió que se produzca la transcripción del gen TNMD, sin embargo, se pudo ver el aumento de expresión de DCN al día 21 de manera más rápida que en MSC adultas, esto plantea la inquietud sobre el potencial terapéutico que puedan tener las MSC fetales, como así mismo, la importancia de realizar estudios *in vivo* que demuestren el real efecto de curación que estas células puedan alcanzar en el tendón tratado.

De acuerdo a los datos que fueron posible recoger de la bibliografía en esta monografía, ninguno de los tratamientos aplicados ha resultado más eficaz que otro. Sin embargo, sí se

ha observado un claro beneficio del tratamiento con MSC y PRP en lesiones en el TDFS con respecto a los grupos control. Es de vital importancia conocer los efectos individuales tanto del uso de PRP como de las MSC. En el estudio de Romero (2016), se propone estudiar el efecto de la utilización de estas terapias en conjunto, teniendo en cuenta que el protocolo terapéutico sería la aplicación de una dosis de PRP luego de la lesión tendinea, seguido del cultivo y expansión de MSC suspendidas en PRP, utilizando a las MSC como nuestra segunda terapia regenerativa. Según Carvalho *et al.* (2013), la suspensión de MSC en PRP ha demostrado tener resultados prometedores en la tendinitis en equinos de deportes. Se presume de estos buenos resultados por la ayuda que genera el PRP en la proliferación de MSC *in vitro*, probablemente como consecuencia de su alto contenido de factores de crecimiento.

## CONCLUSIONES

- Es importante destacar que de acuerdo a la información recogida en esta monografía, el tratamiento con terapias regenerativas no sustituye ni disminuye el tiempo de la rehabilitación fisiológica de los tejidos, sino que constituye un método terapéutico complementario que influye positivamente en los resultados.
- Los tratamientos realizados con terapias reparativas, si bien es cierto, presentan ventajas respecto a los tratamientos tradicionales para las lesiones del aparato locomotor, todavía quedarán muchas incógnitas que no se han podido resolver, como son: el número de administraciones que se necesitan de PRP la dosis optima de MSC y el tiempo que se debe esperar para aplicar la terapia regenerativa en la lesión.
- Es necesario generar una estandarización en las investigaciones, mediante la organización de nuevos protocolos en el uso de materiales y métodos, en relación a terapias regenerativas como las células madres y también en el uso de PRP, ya que los resultados son muy disimiles dependiendo del protocolo que se use, de la edad de los animales tratados y del tiempo que lleve la lesión.
- La información revisada permite inferir que al comparar los resultados obtenidos con las terapias regenerativas PRP y MSC, considerando los parámetros analizados en cada estudio en conjunto, no es posible determinar una mayor o menor eficiencia entre ellas, siendo ambos beneficiosos para la curación de los tendones tratados versus los tendones control, quedando abierta la necesidad de continuar con estudios que permitan estandarizar las técnicas empleadas y la indicación terapéutica de acuerdo al paciente en particular.
- De acuerdo a los datos obtenidos en la bibliografía, se puede demostrar los beneficios de utilizar las MSC, siendo el único inconveniente el tiempo que demora la obtención de dichas células, ya sea de tejido adiposo u óseo, por lo que nos deja

la inquietud sobre la utilización de las terapias con MSC alogénicas, y la falta de investigación que ellas tienen, ya que se ha podido demostrar, que al aplicarlas existe una respuesta inmune que podría ser disminuida con la utilización en conjunto de la terapias regenerativas PRP y MSC.



## **BIBLIOGRAFÍA**

**ABELLANET, I.** 2009. La terapia de lesiones de tejidos blandos y articulaciones con plasma rico en plaquetas en caballos de deporte: evidencia clínica y bioquímica que valida su utilización. Tesis de Doctorado, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, España. 26-71 pp.

**ABELLANET, I; PRADES, M.** 2009. Repeated intralesional platelet rich plasma (prp) injection evaluated in 72 sport horses with superficial flexor tendon injuries improves clinical scores and return to performance. International Congress of the World Equine Veterinary Association. 18-25 pp.

**AGUILAR, J.** 2015. Tendinopatias del tendón flexor superficial: diagnóstico y tratamientos. [En línea]. Egronomix. <<https://www.engormix.com/equinos/articulos/tendinopatias-tendon-flexor-digital-t31272.htm>> [Consulta: 18-05-2018]. 1-8 pp.

**ANKRUM, J; ONG, J; KARP, J.** 2014. Mesenchymal stem cells: Immune evasive, not immune privileged. *Nature Biotechnology*. 32: 252-260.

**ARIAS, J; BEATO, C.** 2013. Terapia regenerativa en tendones y células madres en medicina equina. *Avances en ciencias veterinarias*. 28(2): 3-8.

**BOSCH, G; VAN SCHIE, H; GROOT, M; CADBY, J; VAN DE LEST, C; BARNEVELD, A.** 2010. Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons: A placebo-controlled experimental study. Department of equine sciences. Faculty of Medicine Veterinary, Universidad de Utrecht, Países Bajos. 20-25 pp.

**CARMONA, J; LÓPEZ, C.** 2011. Tendinopatía del tendón flexor digital superficial y desmopatía del ligamento suspensorio en caballos: fisiopatología y terapias regenerativas. Departamento de Salud Animal. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 5-9 pp.

**CARMONA, J; LOPEZ, C; GIRALDO, C.** 2011. Uso de concentrados autólogos de plaquetas como terapia regenerativa de enfermedades crónicas del aparato musculoesquelético equino. *Archivos de medicina veterinaria*. 43(1): 1-8.

**CARMONA, J; PRADES, M; ARGÜELLES, D.** 2009. Concentrados autólogos de plaquetas como tratamiento de lesiones de tejidos blandos del aparato locomotor en caballos. *Archivos de medicina veterinaria*. 41(1): 77-82.

**CARVALHO, A; RAMOS, P; CISNERO, L; MILUZZI, A; SECORUM, A; DEFFUNE, E; HUSSNI, C; GARCIA, A.** 2013. Equine tendonitis therapy using mesenchymal stem cells and platelet concentrates: a randomized controlled trial. Stem cell research & therapy. 2-10 pp.

**CROVANCE, A; LACITIGNOLA, L; GIACOMO, R; EDDA, F.** 2010. Histological and immunohistochemical evaluation of autologous cultured bone marrow mesenchymal stem cells and bone marrow mononucleated cells in collagenase-induced tendinitis of equine superficial digital flexor tendon. *Veterinary medicine international*. 4-10 pp.

**DELFINO, I.** 2015. Descripción del efecto del plasma rico en plaquetas ozonizado asociado a los pulsos electromagnéticos en tendinitis y entesopatias del flexor profundo en su porción intracapsular en equinos. Tesina para aspirar al título de especialista en medicina deportiva del equino. Universidad de Buenos Aires, Argentina. 6-26 pp.

**DURGAM, S; STEWART, M.** 2017. Evidence supporting intralesional stem cell therapy to improve equine flexor tendon healing. *Veterinary evidence*. 2(1): 3-14.

**FAÚNDEZ, R.** 2010. Plasma rico en plaquetas (PRP) y su uso en cirugía veterinaria. Hospital Veterinario de Santiago. Centro de Referencia Medico feline Moggie Cat's. 1-5 pp.

**FORTIER, L; TRAVIS, A.** 2011. Stem cells in veterinary medicine. Department of Clinical Sciences. Cornell University. 2-9 pp.

**GEBUREK, F; GAUS, M; VAN SCHIE, H; ROHN, K; STADLER, P.** 2016. Effect of intralesional platelet-rich plasma (PRP) treatment on clinical and ultrasonographic parameters in equine naturally occurring superficial digital flexor tendinopathies – a randomized prospective controlled clinical trial. [En línea]. National library of medicine national institutes of health. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5015224/>> [Consulta: 02-07-2018]. 12(1): 12-31.

**GODWIN, E; YOUNG, N; DUDHIA, J; BEAMISH, J; SMITH, R.** 2011. Implantation of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells demonstrates improved outcome in horses with over-strain injury of the superficial digital flexor tendon. *Equine Veterinary Journal*. 44(1): 1-7.

**GUEST, D; SMITH, M; ALLEN, W.** 2010. Equine embryonic stem-like cells and mesenchymal stromal cells have different survival rates and migration patterns following

their injection into damaged superficial digital flexor tendon. *Equine Veterinary Journal* 42: 636-642.

**GUTIERREZ-NIBEYRO, S.** 2011. Commercial Cell- based Therapies for Musculoskeletal Injuries in Horses. *Veterinary Clinics Equine.* 27: 363-371.

**HERNÁNDEZ, H.** 2012. Tendinitis equina: revisión de casos clínicos tratados con plasma rico en plaquetas. Tesina para aspirar al título de especialista en medicina deportiva del equino. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires, Argentina, 9-28 pp.

**LOVATI, A; CORRADETTI, B; CREMONESI, F; BIZARRO, D; CONSIGLIO, L.** 2012. Tenogenic differentiation of equine mesenchymal progenitor cells under indirect co-culture. *The International Journal of Artificial Organs.* 996-1005 pp.

**MAIA, L; DE SOUZA, M; RIBEIRO, J; DE OLIVEIRA, A; SILVEIRA, G; DOS ANJOS, L; ROBAINA, Y; MOTA, B; LOPES, J.** 2009. Platelet-Rich plasma in the treatment of induced tendinopathy in horses: histologic evaluation. Department of Veterinary Medicine. Federal university of Vicosa, Brasil. 619- 625 pp.

**MICHELOTTO, P; ARAÚJO, L; PANZA, A; RAMOS, C.** 2009. Platelet-rich plasma (prp) in suspensory ligament lesions – use in three thoroughbred racehorses. *International congress of the world equine veterinary association.* 8-32 pp.

**MOHAMED, S; MOHAMED, O; FATHY, E; ESLAM, E; MOHAMED, M.** 2017. Influence of Platelets Rich Plasma on Repair of Superficial Digital Flexor Tendon Rupture in Donkeys (An Experimental Study). *Zagazig Veterinary Journal, Egypt.* 45(3): 283-291.

**MOHANTY, N.; GULATI, B.; KUMAR, R.** 2014. Immunophenotypic characterization and tenogenic differentiation of mesenchymal stromal cells isolated from equine umbilical cord blood. *In vitro cellular & developmental biology animal.* 50(6): 538-548.

**MONTEIRO, S; LEPAGE, O; THEORET, C.** 2008. Effects of platelet rich plasma (PRP) on the repair of wounds on the distal limb in horses. *The European Society of Veterinary Orthopaedics and Traumatology. American journal of veterinary research.* 70: 277-282.

**NIXON, A; DAHLGREN, L; HAUPT, J; YEAGER, A; WARD, D.** 2008. Effect of adipose-derived nucleated cell fractions on tendon repair in horses with collagenase-induced tendinitis. *American journal of veterinary research.* 69(7): 928-934.

- OLIVA, R.** 2017. Determinación del potencial de diferenciación tenogénica in vitro de células madre mesenquimáticas derivadas de médula ósea fetal equina. Memoria de título profesional de médico veterinario. Departamento de fomento de la producción animal. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. Universidad de Chile. 20-27 pp.
- OTONDO, C.** 2012. Uso de Células madre de origen adiposo para el tratamiento de tendinitis y desmitis en equinos: revisión bibliográfica. Memoria de título profesional de médico veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 3-15 pp.
- PEÑA, J.** 2017. La histología de la inserción tendinosa. Facultad de Medicina. Departamento de ciencias morfológicas. Área de histología. Universidad de Córdoba, Argentina. 2-9 pp.
- PERONI, J.** 2017. Strategies for the Treatment of Tendon and Intra-Articular Injuries. Department of Large Animal Medicine. Veterinary Medical Center. University of Georgia. Athens, Estados Unidos. 1-8 pp.
- PIMENTA, R; GOMES, C; DIAZ, R.** 2009. Treatment of tendinitis in polo ponies using platelet rich plasma (prp): case report. International congress of the world equine veterinary association. 6-33 pp.
- RANERA, B.** 2012. Células madres mesenquimales equinas: obtención y análisis de sus propiedades in vitro. Memoria de Doctor. Facultad de veterinaria, Universidad de Zaragoza, España. 32-182 pp.
- ROMERO, A.** 2016. Tratamiento de las tendinitis inducidas en caballos: Estudio comparativo entre plasma rico en plaquetas (PRP) y células madres mesenquimales (MSCs). Memoria de Doctor. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España. 51-56 pp.
- SÁNCHEZ, J.** 2009. Clinical course in the treatment of chronic patellar tendinopathy through ultrasound guided percutaneous electrolysis intratissue. Doctorate's Thesis. Atlantic International University. Honolulu, Hawaii. 30-33 pp.
- SANCHEZ, J.** 2011. Estudio comparativo de un tratamiento fisioterapéutico convencional con uno que incluye la técnica de electrolisis percutánea intratisular en pacientes con tendinopatía crónica del tendón rotuliano. Facultad de Veterinaria. Universidad de Salamanca, España. 25-110 pp.

- SANCHEZ, M; ANITUA, E; ORIVE, G; MUJICA, I; ANDIA, I.** 2009. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopedic sport injuries. *Sports Medicine*. 39: 345-354.
- SCIPIONI, H.** 2011. Técnica y aplicación de células madres en lesiones tendineas de equinos deportivos. Tesis para título de especialista en medicina deportiva del equino. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. 4-16 pp.
- SENNER, C; KRUEGER, F; OXLEY, D; ANDREWS, S; HEMBERGER, M.** 2012. DNA methylation profiles define stem cell identity and reveal a tight embryonic extraembryonic lineage boundary. *Stem cell technology*. 1-12 pp.
- SHARMA, P.; MALFFULLI, N.** 2017. Tendon Injury and Tendinopathy: Healing and Repair. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 87: 187-192.
- SMITH, R.** 2008. Mesenchymal stem cell therapy for equine tendinopathy. *Disabil Rehabil* 30: 1752-1758.
- TAYLOR, S; CLEGG, P.** 2011. Collection and propagation methods for mesenchymal stromal cells. *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 27: 263– 274.
- VÁSQUEZ, F; ROMERO, A; RODELLAR, C.** 2012. Medicina regenerativa: aplicación en la clínica equina. Departamento de patología animal. Servicio de cirugía y medicina equina. Hospital veterinario. Universidad de Zaragoza, España. 4-8 pp.
- VILLATORO, A; FARIÑAS, F.** 2017. Conceptos básicos sobre terapia celular con células madres. *ImmuneStem Instituto de Inmunología Clínica y Terapia Celular*. Málaga, España. 1-2 pp.
- VIOLINI, S; RAMELLI, P; PISANI, L; GORNI, C; MARIANI, P.** 2009. Horse bone marrow mesenchymal stem cells express embryo stem cell markers and show the ability for tenogenic differentiation by in vitro exposure to BMP-12. *BMC cellular biology*. 29(2): 2-8.
- WATTS, A; YEAGER, A; KOPYOV, O; NIXON, A.** 2011. Fetal derived embryonic-like stem cells improve healing in large animal flexor tendonitis model. *Stem cell research & therapy*. 5(2): 4-9.
- YAMADA, A; ALVARENGA, M; BRANDAO, J; WATANABE, M; RODRIGUES, C; HUSSNI, C; ALVES, A.** 2016. Arcabouço de PRP-gel associado a células tronco

mesenquimais: uso em lesões condrais em modelo experimental equino. Pesquisa veterinaria brasileira. 36(6): 461-467.

### ANEXO 1.

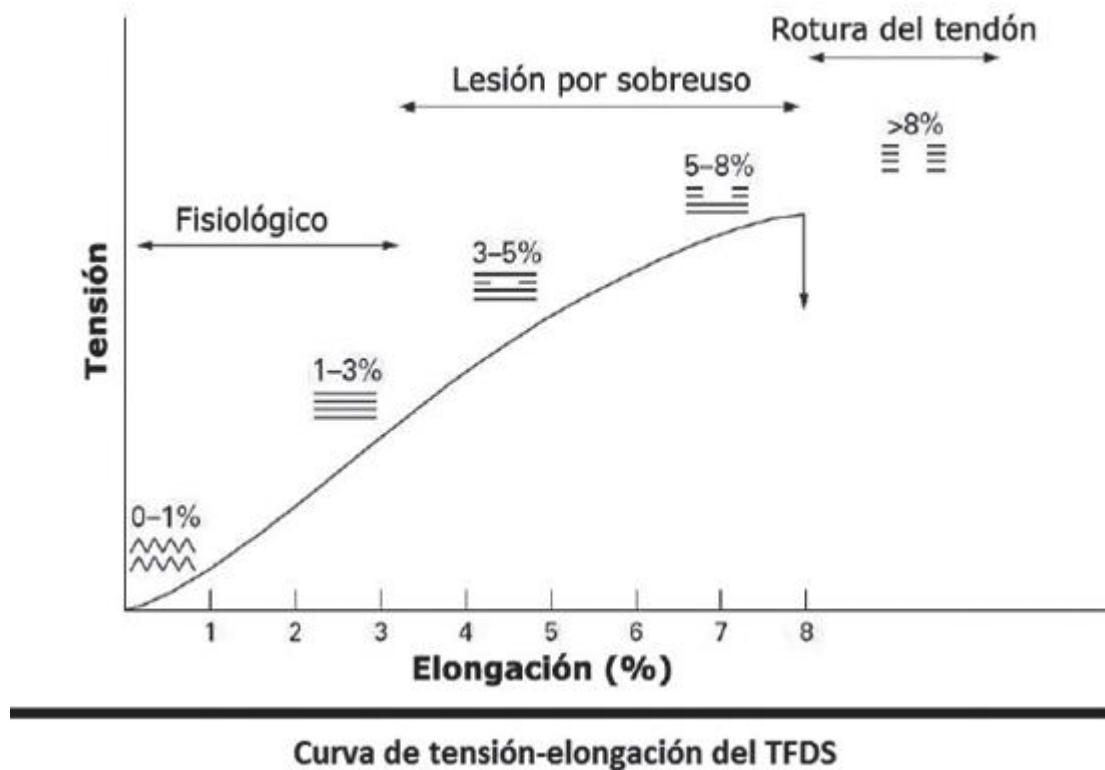


Fig. N°1. Curva tensión/deformación del TFDS (Romero, 2016).

## PLANIFICACIÓN

Para realizar la monografía se ha diseñado la siguiente carta Gantt. Las fechas, están sujetas a disponibilidad de los correctores y disposición de la Facultad de fechas de presentaciones varias.

FECHAS AÑO 2018																									
	MES 1				MES 2				MES 3				MES 4				MES 5				MES 6				
ACTIVIDADES	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Anteproyecto																									
Entrega del proyecto																									
Revisión del proyecto y definición de fechas de presentación del proyecto																									
Presentación del proyecto																									
Recopilación de información																									
Realización de escrito																									

MES 1				MES 2				MES 3				MES 4				MES 5			
1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

Presentación informe de avance																										
Revisión del escrito y edición																										
Entrega de memoria de título																										
Presentación final de la memoria de título																										

Simbología:

Fechas dependientes del trabajo propio.	
Fechas sujetas a cambios, dependientes de la disponibilidad de correctores y facultad.	