

Concentrados autólogos de plaquetas como tratamiento de lesiones de tejidos blandos del aparato locomotor en caballos

Autologous platelet concentrates as a treatment for soft tissue musculoskeletal lesions in horses

JU Carmona^{a*}, M Prades^b, D Argüelles^c

^aGrupo Terapia Regenerativa, Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Calle 65 N° 26-10, Manizales, Caldas, Colombia.
^bDepartamento de Medicina y Cirugía Animal, Universidad Autónoma de Barcelona, Edificio V. 08193. Bellaterra, Barcelona, España.
^cCentro de Referencia Clínica Equina, La Equina. Manilva, Málaga, España.

SUMMARY

The efficacy of an autologous platelet concentrate (APC) in 5 horses with soft tissue musculoskeletal injuries namely: superficial digital flexor tendon (SDFT) tendinopathy and suspensory ligament desmopathy (DSL), was evaluated. Initial degree of lameness, flexion test response, ultrasonographic images and long term (1 year) clinical follow-up were documented. Three injections of APC were performed at two week intervals. Horses were evaluated before each injection, two months after the last treatment and one year after. Platelet counts, white blood cell counts and determination of TGF- β_1 levels per ml of APC were performed. Two horses had acute SDFT tendinopathy, 1 had chronic forelimb proximal desmitis (PD) of the suspensory ligament (PDSL), 2 had chronic hindlimb PDSL, and 1 of them also had desmitis of the medial branch of the suspensory ligament of the right hindlimb. All the horses in this study presented a clinical decrease of degree of lameness and response to flexion test, two months after last APC treatment. Ultrasound appearance improved in the horses with SDFT lesions, but remained the same in the horses with DSL. All the horses returned successfully to competition without reinjury. Means of $250 \pm 71.8 \times 10^6$ platelets, 8.68 ± 3.78 leucocytes $\times 10^6$, and 12.5 ± 2.4 ng of TGF- β_1 per 1 ml of the PC were obtained.

Palabras clave: caballo, tendinopatía, desmopatía, concentrado autólogo de plaquetas, TGF- β_1 .

Key words: horse, tendinopathy, desmopathy, autologous platelet concentrate, TGF- β_1 .

INTRODUCCIÓN

Las lesiones de los tendones y ligamentos sanan lenta e ineficientemente. Una vez se produce la lesión, estas estructuras nunca vuelven a recuperar sus propiedades biomecánicas originales (Goodship y col 1994, Smith y Schramme 2003). Se ha descrito la presencia de citocinas catabólicas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 1 (IL-1) en biopsias de tendones de caballos afectados por tendinopatía crónica (Hosaka y col 2002, Hosaka y col 2004). Estas citocinas promueven la producción exagerada de metaloproteinasas de matriz (MMPs) y ciclooxigenasa 2 (COX-2), entre otras moléculas proinflamatorias, las cuales tienen efectos nocivos sobre la matriz extracelular (ECM) y las células residentes de tejidos tales como los tendones y ligamentos (Tsuzaki y col 2003, Hosaka y col 2004, Hosaka y col 2005).

Los efectos negativos de las citocinas catabólicas podrían ser disminuidos por algunos factores de crecimiento (GFs) (van Miert 2002). Estudios *in vitro* han demostrado

las propiedades benéficas del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) (Murray y col 2003, Anitua y col 2004), factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I) (Dahlgren y col 2001), y otros GFs (Zhang y col 2003, Murray y col 2003, Wong y col 2003). Además, Dahlgren y col (2002) documentaron la acción positiva del IGF-I en un modelo equino de tendinitis del flexor digital superficial (SDFT) inducida con colagenasa. Los resultados de esos estudios sugieren los posibles beneficios de usar GFs como un tratamiento complementario de las lesiones de tejidos blandos del aparato locomotor, ya sea mediante el uso de proteínas puras recombinantes o mediante terapia génica (Dahlgren y col 2001, Beredjikian 2002, Dai y col 2003).

Los concentrados de plaquetas son una fuente autóloga de algunos GFs, especialmente TGF- β_1 y otras moléculas que modulan la inflamación y el proceso de reparación tisular (Anitua y col 2004, 2005, Sutter y col 2004). Los concentrados autólogos de plaquetas (APCs) han sido usados exitosamente en medicina humana en situaciones como reconstrucción alveolomaxilar (Anitua y col 2004, Carlson y col 2002), cirugía plástica (Bhanot y Alex 2002) y ortopédica (Anitua y col 2004). También existen reportes anecdóticos sobre el uso de APCs como tratamiento de la tendinopatía de Aquiles en dos atletas y para tratar una

Acceptado: 20.06.2008.

* Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Calle 65 N° 26-10, Manizales, Caldas, Colombia; carmona@ucaldas.edu.co

avulsión traumática de cartílago articular en un jugador de fútbol (Sánchez y col 2003). Anitua y col (2005) documentaron los efectos positivos de los concentrados de plaquetas sobre tenocitos humanos. En ese estudio los concentrados plaquetarios indujeron proliferación celular y aumento en la expresión de dos péptidos angiogénicos como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y factor de crecimiento derivado del hepatocito (HGF). Adicionalmente, Schnabel y col (2007) y Smith y col (2006) describieron importantes efectos anabólicos del plasma rico en plaquetas sobre explantes de tendones equinos. En esos trabajos se pudo observar que los concentrados de plaquetas promovían la síntesis de colágeno tipo I y de la proteína oligomérica de la matriz de cartílago (COMP).

En este trabajo se presenta un estudio clínico descriptivo sobre el uso de APCs como tratamiento de lesiones de tendones y ligamentos en cinco caballos. Los objetivos de este trabajo fueron describir los posibles efectos benéficos y la seguridad clínica de la inyección de APCs en caballos con lesiones de tejidos blandos del aparato locomotor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio clínico fue aprobado por las directivas del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Autónoma de Barcelona, España. Los propietarios fueron informados sobre la naturaleza experimental del tratamiento con APCs y sus posibles complicaciones. Todas las observaciones y determinaciones fueron realizadas por el mismo clínico.

CABALLOS

Cinco caballos de diferente sexo, edad, raza y aptitud fueron incluidos en el estudio. La edad promedio de los pacientes fue de 8,6 años (rango 5-14 años). Un total de ocho extremidades fueron tratadas, ya que algunos pacientes presentaban lesión bilateral (cuadro 1). Dos pacientes tenían lesión aguda relacionada con tendinopatía del SDFT, uno con desmitis proximal crónica bilateral del ligamento suspensorio de los miembros anteriores, dos caballos con desmitis crónica bilateral del origen del ligamento suspensorio de los miembros posteriores; uno de esos pacientes también presentaba desmitis de la rama medial del ligamento suspensorio del miembro posterior izquierdo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los criterios de inclusión empleados en este trabajo fueron que los caballos presentaran lesiones de tendones o ligamentos, pero que no hubieran sido tratados al menos durante los últimos seis meses. Los caballos enrolados no debían recibir ningún tratamiento adicional durante el tiempo del estudio (más de un año).

ESQUEMA DEL TRATAMIENTO

Cada paciente fue tratado con una inyección intra y perilesional de un APC cada 15 días, por tres veces consecutivas.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un examen completo de cojera a cada paciente. En éste se incluyeron los bloqueos anestésicos necesarios para determinar el sitio exacto de la lesión en la extremidad. Cada examen fue complementado mediante evaluación ecográfica. Los exámenes de cojera y ecográfico fueron realizados antes de cada tratamiento, dos meses después de la última inyección del APC y un año después. El grado de cojera fue calificado subjetivamente de 0-5 de acuerdo con el criterio de la AAEP (1991). El examen de cojera siempre fue realizado sobre la misma superficie, los pacientes fueron manipulados por el mismo operario y recorrieron siempre la misma distancia.

Para la evaluación ecográfica de las lesiones de tendones y ligamentos se empleó la clasificación ecográfica modificada de Rantanen y col (2003), que incluye la combinación de los signos clínicos (calor, inflamación, cojera, sensibilidad al tacto y grosor de las estructuras anatómicas comprometidas) y las lesiones ecográficas de cada paciente. Los parámetros ecográficos usados en este estudio incluyeron: perímetro de área seccional (CSA), región de mayor lesión (MIZ), porcentaje de la región de mayor lesión en comparación con la región contralateral sana del ligamento o tendón, patrón ecogénico de la lesión y orientación transversa y longitudinal de las fibras. El examen clínico y el ecográfico de cada caballo fueron combinados para crear una escala cualitativa de lesión en seis categorías de 0-V, donde 0 = tendón o ligamento de apariencia ecográfica normal en un paciente clínicamente normal, V = presencia de lesiones anecoicas muy graves, con un gran incremento en los parámetros CSA-MIZ, desorganización horizontal y/o transversal de las fibras con evidentes signos clínicos acompañados de grados moderado o severo de cojera.

El tratamiento con los APCs fue considerado como exitoso cuando el caballo regresaba al mismo nivel físico-atlético de entrenamiento o competición que tenía antes de haber presentado la lesión y sin observarse recidiva a lo largo del período de evaluación clínica (un año).

PREPARACIÓN E INYECCIÓN DEL CONCENTRADO AUTÓLOGO DE PLAQUETAS

Previo preparación aséptica, se obtuvo sangre entera de la vena yugular de cada paciente mediante un catéter mariposa 23G (Terumo, Bélgica). La sangre fue depositada en tubos de citrato de sodio 3,2% v/v con capacidad para 5 ml. Los tubos con sangre fueron centrifugados a 120 g durante cinco minutos. La primera fracción supernadante

(50%) del plasma, adyacente a la capa leucoplaquetaria (*buffy coat*), fue obtenida bajo estricta asepsia en una cámara de flujo laminar horizontal. Esta fracción fue depositada en tubos sin aditivo y centrifugada a 240 g durante cinco minutos. Luego se extrajo el 25% del plasma del fondo de cada tubo. Esta última fracción fue depositada dentro de jeringas estériles y activada con cloruro de calcio (4,5 mEq/5 ml), a razón de 50 μ l por ml de APC (Argüelles y col 2006). Dos ml de APC de cada paciente fueron empleados para realizar recuento de plaquetas y leucocitos (ADVIA 120, Bayer, USA) y determinar los niveles de TGF- β_1 mediante una prueba comercial humana de ELISA (R&D System, USA).

El área afectada de la extremidad de cada paciente fue preparada asépticamente para realizar la inyección del APC. Los pacientes fueron sedados con un bolo intravenoso de detomidina (40 μ g/kg) (Domosedan, Pfizer, España) y tartrato de butorfanol (0,02 mg/kg) (Torbugesic, Fort Dodge Laboratories Inc, España). Cada APC fue aplicado peri e intralesionalmente mediante inyección (aguja 21G) ecoguiada. La cantidad de APC usada en cada paciente fue determinada subjetivamente en función del tipo, tamaño (cm² de área en corte transversal ecográfico) y extensión de la lesión (cm de longitud) (cuadro 1). Durante el tratamiento los caballos fueron confinados y dos semanas después de la última inyección se permitió un aumento gradual del ejercicio en función de la sintomatología clínica de cada paciente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio clínico piloto fue realizado en equinos, en atención a que existe suficiente información científica y anecdótica sobre los efectos positivos de los APCs en lesiones de tejidos blandos de seres humanos (Bhanot y col 2002, Carlson y col 2002, Anitua y col 2004), tales como tendinopatías y desmopatías (Sánchez y col 2003, Anitua y col 2005).

Un promedio de 5 ml de APC fue obtenido a partir de cada 75 ml de sangre entera. El análisis de APC reveló un promedio de $250 \pm 71,8 \times 10^6$ plaquetas, $8,68 \pm 3,78$ leucocitos $\times 10^6$ y $12,5 \pm 2,4$ ng de TGF- β_1 por mililitro. La técnica empleada para preparar los APCs de este estudio produjo una baja concentración de plaquetas ($250 \pm 71,8 \times 10^6$ plaquetas/ml) en comparación con los valores obtenidos mediante el método de aféresis descrito por Carter y col (2003) (490×10^6 plaquetas/ml) y por Sutter y col (2004) (855×10^6 plaquetas/ml) o mediante un método semiautomatizado de *buffy coat* (1.472×10^6 plaquetas/ml). Sin embargo, con la técnica empleada en este estudio se obtuvieron concentraciones elevadas de TGF- β_1 ($12,5 \pm 2,4$ ng/ml) en comparación con las concentraciones obtenidas mediante el método de aféresis descrito por Carter y col (2003) ($7,4 \pm 1,3$ ng/ml), y concentraciones bajas de TGF- β_1 en comparación con los resultados descritos por Sutter y col (2003) (23,6 ng/ml). Es importante aclarar que concentraciones tan bajas como 5 ng/ml de TGF- β_1 inducen síntesis de ECM y proliferación celular *in vitro* (Fortier y col 1997).

Los animales con lesiones del SDFT presentaban un registro ecográfico inicial grado V (cuadro 2). Los caballos con desmitis del origen del ligamento suspensorio presentaron registros ecográficos entre los grados I-IV (mediana II) (cuadros 2 y 3). Durante el inicio del estudio todos los pacientes presentaron un grado leve de cojera y una respuesta moderada a la prueba de flexión. El mejoramiento en ambos parámetros (clínico y ecográfico) fue más evidente al final del estudio. La apariencia cosmética del área lesionada (tendinopatías) fue excelente, incluso después de la primera inyección.

La evaluación ecográfica seriada mostró un mejoramiento en el registro de las lesiones, especialmente en los pacientes con tendinopatía del SDFT (cuadro 2). Los pacientes con desmitis del origen del ligamento suspensorio no cambiaron la apariencia del registro de calificación ecográfica. Sin embargo, estos pacientes

Cuadro 1. Historia clínica, reseña y aptitud de los pacientes del estudio.

Clinical history sex, breed, age and aptitude of the studied patients.

Caballo N°	Raza	Sexo	Edad (años)	Disciplina	Extremidad afectada	Diagnóstico	APC (ml/lesión)
1	Cruce	Hembra	10	Salto	AI	Tendinopatía aguda del SDFT	5
2	Cruce	Macho	11	Salto	AD	Tendinopatía aguda del SDFT	5
3	Warmblood	Macho	11	Doma clásica	D&IA	PDSL Crónica	8
4	Angloárabe	Macho castrado	6	Salto	D&IP	PDSL Crónica	8
5	Trotón	Macho	5	Trote	D&IP	PDSL crónica. Desmitis de la rama medial del SL de la EPI	8-4

AI: Anterior izquierda. AD: Anterior derecha. PD: posterior derecha. PI: Posterior izquierda. SDFT: tendón flexor digital superficial. PDSL: Desmitis proximal del origen del ligamento suspensorio. SL: Ligamento suspensorio.

Cuadro 2. Evaluación ecográfica y clasificación de los caballos con lesiones del tendón flexor digital superficial y del ligamento suspensorio.
Ultrasound evaluation and classification of the horses with superficial digital flexor tendon and suspensory ligament lesions.

Caballo Nº	Evaluación ecográfica de la lesión									
	Antes del 1 ^{er} tratamiento	C	Antes del 2 ^o tratamiento	C	Antes del 3 ^{er} tratamiento	C	Dos meses después	C	Un año después del último tratamiento	C
1	Lesión circular lateral de 2 cm de longitud, localizada en la región 2A. Representa el 10% del CSA del tendón.	IV	La lesión es más pequeña y menos extendida (1cm). Las fibras están más organizadas.	III	No existe una diferencia ecográfica objetiva entre la lesión y el resto del tendón.	II	Similar a la última evaluación.	II	Similar a la última evaluación.	II
2	Lesión hipoeoica ubicada medialmente en la región 2A. Representa el 20% del CSA. El perímetro de la lesión es de 17,3 mm ² .	IV	Existe un incremento de la ecogenicidad de la lesión y disminución de su tamaño. El perímetro de la lesión es de 14,8 mm ² .	III	Existe un incremento de la ecogenicidad de la lesión y buen alineamiento de las fibras en el sitio de la lesión.	III	Patrón de ecogenesidad y orientación de las fibras casi normal en el sitio de la lesión.	II	No existe evidencia de lesión ecográfica en el tendón.	I
3	EAI: Engrosamiento del origen del SL, región 1A (10,8 mm -sección longitudinal-). Periostitis 2-4 MT en la región 2B. EAD: Sin cambios en el SL.	II	EAI: Disminución de la sección longitudinal del origen del SL (10,5 mm).	II	EAI: Sin cambios.	II	EAI: Sin cambios.	II	EAI: Sin cambios.	II
		I	EAD: Sin cambios.	I	EAD: Sin cambios.	I	EAD: Sin cambios.	I	EAD: Sin cambios.	I

C: Categoría de la lesión. CSA: Corte de área seccional. E: Extremidad. MT: hueso metatarsiano. 1A, 2A, y 2B: representan las regiones de la extremidad evaluada mediante ecografía. Demás iniciales como en la tabla 1.

Cuadro 3. Evaluación ecográfica y clasificación de los caballos con lesiones del ligamento suspensorio.
Ultrasound evaluation and classification of the horses with suspensory ligament lesions.

Caballo Nº	Evaluación ecográfica de la lesión									
	Antes del 1 ^{er} tratamiento	C	Antes del 2 ^o tratamiento	C	Antes del 3 ^{er} tratamiento	C	Dos meses después	C	Un año después del último tratamiento	C
4	Engrosamiento del origen de ambos ligamentos suspensorios de los miembros posteriores.	II	Sin cambios en ninguna extremidad.	II	Sin cambios en ninguna extremidad.	II	Sin cambios en ninguna extremidad.	II	Sin cambios en ninguna extremidad.	II
5	Engrosamiento del origen de ambos ligamentos suspensorios de los miembros posteriores. Lesión hipoeoica en la rama medial del SL de la EPI.	IV	Sin cambios en el origen de ambos SLs. Ecogenicidad incrementada de la rama medial del SL de la EPI.	III	Sin cambios en el origen de ambos SLs. No existe evidencia de lesión en la rama del SL.	II	Sin cambios desde la última evaluación.	II	Sin cambios desde la última evaluación.	II

Iniciales como en las tablas 1 y 2.

presentaron disminución del grado de cojera y respuesta a la prueba de flexión. Los caballos con desmitis del origen del ligamento suspensorio finalizaron el estudio con una calificación ecográfica mediana similar a la inicial (II), pero con una disminución en el rango de la clasificación (I-II) (cuadros 2 y 3).

Los caballos con tendinopatía del SDFT regresaron a su nivel de ejercicio o competencia normal 4,5 meses después del último tratamiento, sin recidiva durante el período de seguimiento (1 año). El caballo con desmitis crónica bilateral del origen del ligamento suspensorio de los miembros anteriores regresó a su nivel de competencia previo a la lesión dos meses después del último tratamiento y no presentó recidiva durante el año de seguimiento. Los pacientes con desmitis bilateral del origen del ligamento suspensorio de los miembros posteriores regresaron a su nivel de competición a los seis meses después de la última inyección del APC y no mostraron recaídas durante el año de seguimiento.

Aunque los caballos 1 y 2 de este estudio presentaron lesiones agudas del SDFT, en realidad esas afecciones podrían ser potencialmente consideradas como un cuadro de naturaleza degenerativa (Molloy y col 2003). Es necesario considerar que, aunque muchas lesiones tendinosas o ligamentosas pueden cursar como afecciones agudas (traumáticas), muchas de éstas, en realidad, son episodios relacionados con recidiva de lesiones crónicamente activas o con el fallo biomecánico de tejido cicatricial ubicado dentro de los tendones o ligamentos previamente lesionados (Goodship y col 1994, Dowing y col 2000, Smith y Schramme 2003).

Se sabe que caballos con clasificación de lesión tendinosa del SDFT (grados IV-V) similar a la de los dos caballos de este estudio están muy predisuestos a sufrir recidiva de la lesión; esto a pesar de haber seguido un programa adecuado de ejercicio controlado y recibir tratamiento convencional. Normalmente se recomienda un período de reposo de 9-12 meses como parte del tratamiento de esa clase de pacientes (Jorgensen y Genovese 2003, Dyson 2004). Aunque no es una muestra representativa, en este estudio se pudo apreciar que los dos pacientes con tendinopatía del SDFT, tratados con APCs, regresaron a su nivel de competición normal en la mitad del tiempo esperado y no presentaron recidiva de la lesión en comparación con casos reportados en la literatura, los cuales habían sido manejados con tratamientos convencionales como la inyección intra o perilesional de glicosaminoglicanos polisulfatados, ácido hialurónico o beta-aminopropionitrilo (BAPN), entre otros (Jorgensen y Genovese 2003, Dyson 2004).

Es necesario comentar que en un estudio reciente (Abellanet 2007) se evaluó el efecto de los APCs en 39 caballos con tendinopatía del SDFT con resultados esperanzadores. De manera general, se observó que los caballos tratados con APCs presentaron un mayor éxito terapéutico (medido como regreso a la competición) 69-76% (Abellanet 2007) en comparación con otros estudios en los que caballos con afecciones parecidas fueron tratados

de manera convencional (40-50%) (Dyson 2004). Por otra parte, también se observó que los caballos tratados con plaquetas presentaron un menor nivel de recaídas después de iniciar la competición (20-22%) (Abellanet 2007) en comparación con caballos tratados de manera clásica (50-80%) (Smith 2003, Dyson 2004).

Los casos de desmitis crónica proximal bilateral de los miembros posteriores no mostraron mejoramiento en su apariencia ecográfica después del tratamiento con APCs. Aunque estos pacientes no presentaban lesiones anecoicas y únicamente mostraban desorganización de las fibras y engrosamiento del origen del ligamento suspensorio, ellos mejoraron clínicamente y regresaron a su nivel de trabajo sin recidiva durante el año de seguimiento. El pronóstico de las lesiones del ligamento suspensorio depende de la extensión de la afección, del área afectada y de la extremidad (Dyson y col 1995). La desmitis proximal del ligamento suspensorio tiene un buen pronóstico cuando ocurre en los miembros anteriores en comparación con los posteriores (Dyson y col 1995). El caballo número 3 con desmitis proximal de los miembros anteriores regresó al nivel de entrenamiento previo a la lesión dos meses después de la última inyección de APC. Se ha observado que equinos con esta misma clase de afección regresan al nivel de entrenamiento previo a la lesión después de un programa de reposo seguido por ejercicio controlado durante tres meses (Dyson y Genovese 2003).

La principal limitación del estudio presentado aquí es el pequeño número de casos documentados y la variedad de las patologías. Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos en este trabajo y a partir de los datos documentados por Abellanet (2007), se podría pensar que la inyección de APCs podría ser una nueva terapéutica promisoriosa para el tratamiento de las desmopatías y tendinopatías en el caballo. Sin embargo, esta terapia no puede ser recomendada hasta que se haya evaluado un mayor número de casos clínicos e idealmente bajo un esquema de estudio doble ciego con un largo período de seguimiento. Esto serviría para validar las impresiones clínicas observadas en este estudio y para reafirmar el uso empírico de esta sustancia por muchos veterinarios de equinos. Finalmente, la seguridad del tratamiento con APCs es un aspecto positivo que se puede asumir de esta investigación.

RESUMEN

Se evaluó la eficacia de un concentrado autólogo de plaquetas (APC) en cinco caballos con lesiones de tejidos blandos del aparato locomotor, tales como tendinopatía del tendón flexor digital superficial (SDFT) y desmopatía del ligamento suspensorio (DSL). Se documentaron el grado inicial de cojera, la repuesta a la prueba de flexión, las imágenes ecográficas y un seguimiento clínico a largo término. Se aplicaron tres inyecciones con un intervalo entre inyección de dos semanas. Los caballos fueron evaluados antes de cada inyección, dos meses después del último tratamiento y un año después. El número de plaquetas, leucocitos y los niveles de TGF- β_1 fueron determinados en cada APC. Dos pacientes presentaron tendinopatía aguda del SDFT, un caballo tenía desmitis crónica proximal del ligamento suspensorio (PDSL) de ambos miembros anteriores, dos caballos tenían PDSL de ambos miembros posteriores; de estos pacientes uno tenía desmitis de la rama medial

de ligamento suspensorio del miembro posterior izquierdo. Todos los caballos de este reporte presentaron una disminución clínica del grado de cojera y respuesta a la prueba de flexión dos meses después del último tratamiento. La apariencia ecográfica mejoró en los caballos con tendinopatía del SDFT, pero permaneció similar en los caballos con PDSL. Los caballos con tendinopatía aguda del SDFT regresaron exitosamente a su nivel de competición sin recidiva. Los caballos con PDSL tanto de las extremidades anteriores como posteriores regresaron exitosamente a su nivel de competición sin recidiva. Por cada ml de APC se obtuvo un promedio de $250 \pm 71,8 \times 10^6$ plaquetas, $8,68 \pm 3,78$ leucocitos $\times 10^6$ y $12,5 \pm 2,4$ ng de TGF- β_1 .

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Instituto de Terapia Regenerativa Tisular, Barcelona, España, y a Catalina López, MVZ, por la preparación de los APCs.

REFERENCIAS

- AAEP, American Association of Equine Practitioners. 1991. *Guide for veterinary service and judging of equestrian events: definition and classification of lameness*. Lexington, USA.
- Abellanet I. 2007. Evaluación clínica del tratamiento con plasma rico en plaquetas de las lesiones de los tendones flexores superficiales de 39 caballos de deporte (2004-2007). Tesis de Magister, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Anitua E, I Andia, B Ardanza, P Nurden, AT Nurden. 2004. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis Haemostasis* 91, 4-15.
- Anitua E, I Andia, M Sánchez, J Azofra, MM Zaldueno, M de la Fuente, P Nurden, AT Nurden. 2005. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res* 23, 281-286.
- Argüelles D, JU Carmona, J Pastor, A Iborra, L Viñals, P Martínez, E Bach, M Prades. 2006. Evaluation of single and double centrifugation tube method for concentrating equine platelets. *Res Vet Scien* 81, 237-245.
- Beredjikian PK. 2002. Biologic aspects of flexor tendon laceration and repair. *J Bone Joint Surg (American)* 85, 539-550.
- Bhanot S, JC Alex. 2002. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plastic Surg* 18, 27-33.
- Carlson NE, RB Roach. 2002. Platelet-rich plasma: clinical applications in dentistry. *J Am Dent Assoc* 133, 1383-1386.
- Carter CA, DG Jolly, CE Worden, DG Hendren, CJ Kane. 2003. Platelet-rich gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Path* 74, 244-255.
- Dahlgren LA, AJ Nixon, BD Brower-Toland. 2001. Effects of beta-aminopropionitrile on equine tendon metabolism *in vitro* and on effects of insulin-like growth factor-I on matrix production by equine tenocytes. *Am J Vet Res* 62, 1557-1562.
- Dahlgren LA, MC van Der Meulen, JE Bertram, GS Starrack, AJ Nixon. 2002. Insulin-like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendinitis. *J Orthop Res* 20, 910-919.
- Dai Q, L Manfield, Y Wang, GAC Murrell. 2003. Adenovirus-mediated gene transfer to healing tendon-enhanced efficiency using a gelatin sponge. *J Orthop Res* 21, 604-609.
- Dowing BA, AJ Dart, DR Hodgson, RK Smith. 2000. Superficial digital flexor tendonitis in the horse. *Equine Vet J* 32, 369-378.
- Dyson SJ, RM Arthur, SE Palmer, D Richardson. 1995. Suspensory ligament desmitis. *Vet Clinics Equine* 11, 177-215.
- Dyson SJ, RL Genovese. 2003. The suspensory apparatus. In: Ross MW, Dyson SJ (eds). *Diagnosis and management of lameness in the horse*. Saunders, Philadelphia, USA, Pp 654-672.
- Dyson SJ. 2004. Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000). *Equine Vet J* 36, 415-419.
- Fortier LA, AJ Nixon, HO Mohammed, G Lust. 1997. Altered biological activity of equine chondrocytes cultured in a three-dimensional fibrin matrix and supplemented with transforming growth factor beta-1. *Am J Vet Res* 58, 66-70.
- Goodship AE, HL Birch, AM Wilson. 1994. The pathobiology and repair of tendon and ligament injury. *Vet Clinics Equine* 10, 323-349.
- Hosaka Y, R Kirisawa, E Yamamoto, H Ueda, H Iwai, K Takehana. 2002. Localization of cytokines in tendinocytes of the superficial digital flexor tendon in the horse. *J Vet Med Sci* 64, 945-947.
- Hosaka Y, Y Sakamoto, R Kirisawa R, T Watanabe, H Ueda, K Takehana, M Yamaguchi. 2004. Distribution of TNF receptor and TNF receptor-associated intracellular signaling factors on equine tendinocytes *in vitro*. *Jap J Vet Res* 52, 135-144.
- Hosaka Y, H Teroaka, E Yamamoto, H Ueda, K Takehana. 2005. Mechanism of cell death in inflamed superficial digital flexor tendon in the horse. *J Comp Path* 132, 51-58.
- Jorgensen JS, RL Genovese. 2003. Superficial digital flexor tendonitis in racehorses. In: Ross MW, Dyson SJ (eds). *Diagnosis and management of lameness in the horse*. Saunders, Philadelphia, USA, Pp 628-634.
- Molloy T, Y Wang, G Murrel. 2003. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med Surg* 33, 381-394.
- Murray MM, K Rice, RJ Wright, M Spector. 2003. The effect of selected growth factors on human anterior cruciate ligament cell interactions with a three-dimensional collagen-GAG scaffold. *J Orthop Res* 21, 238-244.
- Rantanen NW, JS Jorgensen, RL Genovese. 2003. Ultrasonographic evaluation of the equine limb: technique. In: Ross MW, Dyson SJ (eds). *Diagnosis and management of lameness in the horse*. Saunders, Philadelphia, USA, Pp 166-188.
- Sakai TK, H Yasuda, H Tohyama, H Azuma, A Nagumo, T Majima, CB Frank. 2002. Effects of combined administration of transforming growth factor- β_1 and epidermal growth factor on properties of the *in situ* frozen anterior cruciate ligament in rabbits. *J Orthop Res* 20, 1345-1351.
- Sánchez M, J Azofra, E Anitua, I Andia, S Padilla, J Santisteban, I Mujika. 2003. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. *Med Scien Sports Exer* 35, 1648-1652.
- Schnabel LV, HO Mohammed, BJ Millar, WG McDermott, MS Jacobson, KS Santangelo, LA Fortier. 2007. Platelet Rich Plasma (PRP) Enhances Anabolic Gene Expression Patterns in Flexor Digitorum Superficialis Tendons. *J Orthop Res* 25, 230-240.
- Smith R, M Schramme. 2003. Tendon injury in the horse: current theories and therapies. *In Practice* 25, 529-539.
- Smith JJ, MW Ross, RK Smith. 2006. Anabolic effects of acellular bone marrow, platelet rich plasma, and serum on equine suspensory ligament fibroblasts *in vitro*. *Vet Comp Orthop Trauma* 19, 43-47.
- Spindler KP, MM Murray, KB Detwiler, JT Tarter, JM Dawson, LB Nanney, JM Davidson. 2003. The biomechanical response to doses of TGF- β_2 in the healing rabbit medial collateral ligament. *J Orthop Res* 21, 245-249.
- Sutter WW, AJ Kaneps, AL Bertone. 2004. Comparison of hematologic values and transforming growth factor- β and insulin-like growth factor concentrations in platelets concentrates obtained by use of buffy coat and apheresis methods from equine blood. *Am J Vet Res* 65, 924-930.
- Tang JB, Y XU, F Ding, XT Wang. 2003. Tendon healing *in vitro*: promotion of collagen gene expression by bFGF with NF-kappaB gene activation. *J Hand Surg [American]* 28, 215-220.
- Tsuzaki M, M Guyton, W Garrett, JM Archambault, W Herzog, L Almenkinders, D Bynum, X Yang, AJ Banes. 2003. IL-1 β induces COX2, MMP-1, -3 and ADAMTS-4, IL-1 β and IL-6 in human tendon cells. *J Orthop Res* 21, 256-264.
- Van Miert ASJ. 2002. Present concepts on the inflammatory modulators with special reference to cytokines. *Vet Res Comm* 26, 111-126.
- Wong MW, YY Tang, SK Lee, BS Fu, BP Chan, CK Chan. 2003. Effect of dexamethasone on cultured human tenocytes and its reversibility by platelet-derived growth factor. *J Bone Joint Su [American]* 85-A, 1914-1920.
- Zhang F, H Liu, F Stile, MP Lei, Y Pang, TM Oswald, J Beck, W Dorsett-Martin, WC Lineaweaver. 2003. Effect of vascular endothelial growth factor on rat Achilles tendon healing. *Plastic Reconst Surg* 112, 1613-1619.