



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
-UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE-
TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN
-MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA-

OPCIÓN: CLINICA DE GRANDES ANIMALES

TEMA: "Tratamiento con plasma rico en factores de crecimiento en fractura apical de hueso sesamoideo proximal en un equino"

TUTOR EXTERNO: M.V Jose Manuel Alonso

TUTOR INTERNO: M.V Mayra Lopez Ramos

RESIDENTE: Paula Reniero Rossi

e-mail: paulareniero@gmail.com

-AÑO 2021-

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi familia y amigos, especialmente a mi padre, quien tuvo plena confianza en mí y me apoyó en todas las decisiones que tomé a lo largo de estos años, y que con tanto esfuerzo me dio la oportunidad de estudiar esta hermosa carrera.

Agradecimientos

Quiero extender un profundo agradecimiento a quienes me acompañaron en este camino. A mi padre, por su apoyo y compañía. Siempre alentándome a seguir, aun cuando sentí que no podía. A mi tía Cyntia, por ser guía y amiga. Por su amor incondicional, por darme una mano cuando la necesité y estar ahí para escucharme y aconsejarme. A mis hermanos, por estar siempre presentes, aun en la distancia. A mis amigos y compañeros, con quienes compartí la mayor parte del tiempo durante estos años. Al Hospital Escuela, cátedra de Inmunología y laboratorio de análisis clínicos, por brindarme el espacio y las herramientas necesarias para desarrollar este trabajo. A mis tutores José Manuel Alonso y Mayra López Ramos, por guiarme en la realización de este trabajo. Muchas gracias por su dedicación y compromiso. Quiero agradecer también a Pamela Teibler y Oscar Amarilla, por participar activamente de este trabajo, por su buena predisposición y su ayuda desinteresada.

Indice

Resumen	1
Introducción	2
Objetivos	7
Objetivo General:	7
Objetivos Particulares:	7
Resultados	11
Discusión	11
Conclusión	12
Anexos	13
Bibliografía	16

Resumen

El Plasma Rico en Factores de Crecimiento (Plasma Rich in Growth Factors) es una técnica novedosa y relativamente reciente aplicable a la reparación tisular. Este método es cada vez más utilizado en medicina regenerativa para el tratamiento de diversas condiciones clínicas. El objetivo de este trabajo es evaluar la evolución luego de la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento sobre una fractura apical de sesamoideo medial del miembro anterior derecho, de un equino Cuarto de Milla. Se recolectaron 25 ml de sangre de la vena yugular, los cuales fueron distribuidos en 5 tubos con 0,5 ml de citrato de sodio. Posteriormente se realizó centrifugado a 460 G. Se extrajeron 0,5 ml de plasma, de la fracción rica en factores de crecimiento, de cada tubo dentro de la cabina de seguridad biológica. Para activar y liberar dichos factores se utilizó 0,1 ml de cloruro de calcio al 10%. Se realizaron tres aplicaciones mediante punción ecoguiada con intervalo de 21 días y controles radiográficos cada 14 días. El resultado fue una evolución clínica y radiológica favorable y la consolidación total de la línea de fractura en 71 días. El plasma original tenía 104×10^3 plaquetas/ μL y fue concentrado a 226×10^3 plaquetas/ μL con una única centrifugación. Se concluye que el método de regeneración ósea basado en la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) es una alternativa más a tener en cuenta considerando los altos costos y factibilidad de una cirugía reparadora, además del bajo índice de recuperación post quirúrgica.

Introducción

Cuando un tejido es agredido, el organismo inicia una serie de reacciones tisulares complejas orientadas a la resolución de la lesión. El resultado final es la formación de un tejido afuncional en la zona traumatizada a consecuencia de la división celular y la síntesis proteica implicada en la resolución. Esto se conoce a menudo con el nombre de cicatrización. Durante todo el largo proceso de recuperación de la zona afectada el tejido lesionado puede evolucionar de dos formas: regenerándose o reparándose. Se entiende por reparación la restauración de un tejido, con células de distinta morfología a las originales y en consecuencia de distinta función. En este caso el tejido afectado normalmente ve limitada su función normal por la formación de tejido fibrótico (cicatriz). La regeneración celular, sin embargo, es un mecanismo de resolución de la lesión de un tejido dónde las células a reparar son sustituidas por células similares, con propiedades análogas a las anteriores, no alterándose ni la arquitectura ni la función del tejido original (Anitua, 2000).

El hueso se encuentra entre los pocos órganos que presentan procesos de regeneración más que una simple reparación. La reparación ósea puede considerarse como un fenómeno regenerativo debido a que se reestablece la organización estructural característica, incluida la médula ósea y sus componentes. (Carrasco y col. 2009)

En la actualidad gran número de investigaciones médicas se dedican a la identificación de mecanismos implicados en la regeneración y reparación tisular, destacando el papel activo de los factores de crecimiento y de las proteínas plaquetarias y plasmáticas en la restitución celular. (Fernández López y col. 2005).

Factores de crecimiento plaquetario

Los factores de crecimiento representan uno de los grupos más importantes de las familias moleculares involucradas en la cicatrización (Molloy, 2003). Estos conforman un conjunto de sustancias de naturaleza peptídica cuya misión es la comunicación intercelular a nivel molecular. Son capaces de modificar las respuestas biológicas celulares, ya que regulan la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular, e incluso la apoptosis. La función principal de los factores de crecimiento es la del control externo del ciclo celular, mediante el abandono de la quiescencia celular (G0) y la entrada de la célula en fase G1. Los factores de crecimiento estimulan el aumento del tamaño celular al incrementar la síntesis proteica de las células sobre las que actúan. (Peñarrocha y col. 2001)

Los principales factores de crecimiento plaquetario de los que más se conoce su función son:

- Factor de crecimiento de origen plaquetario (PDGF): Su principal función es promover indirectamente la angiogénesis a través de los macrófagos, por un mecanismo de quimiotaxis. Activa los macrófagos, tiene una importante actividad mitógena en las células mesenquimales, así como en las neuronas, células de la microglía, promoviendo la proliferación y remielinización de los oligodendrocitos y facilita la formación de colágeno tipo 1.
- Factor de crecimiento de transformación-beta (TGF-beta): Su misión fundamental es la de quimiotaxis. Induce la proliferación y diferenciación de células mesenquimales. Promueve la síntesis de colágeno por los osteoclastos. Es proangiogénico tisular; inhibe la formación de osteoclastos como la proliferación de células epiteliales en presencia de otros factores. Induce la diferenciación de células madre troncales neuronales.
- Factor de crecimiento fibroblástico (FGF): Activa la proliferación y diferenciación de osteoclastos, fibroblastos e inducción de fibronectina por éstos y células madre troncales neuronales. Inhibe la acción osteoclástica. Tiene una importante actividad proangiogénica por acción quimiotáctica en las células endoteliales.
- Factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1): Induce la proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento; asimismo, tiene un potente efecto mitótico en la celularidad progenitora troncal neuronal. Facilita la síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno tipo 1 por los osteoblastos.
- Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF): Activa la quimiotaxis y diferenciación de células endoteliales, promueve la hipermeabilidad de los vasos sanguíneos. Factor de crecimiento ectodérmico (EGF) Tiene gran capacidad proapoptótica, de quimiotaxis y diferenciación de células epiteliales, renales, neuronales, gliales y fibroblastos.
- Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF): Induce la proliferación, diferenciación y quimiotaxis de celularidad neuronal, microglial y oligodendrocitaria, así como la remielinización de las mismas.

- Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF): Tiene como principal función la proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, angiogénesis y síntesis de matriz extracelular. (Alcaraz Rubio y col, 2015)

Plasma rico en factores de crecimiento

El Plasma Rico en Factores de Crecimiento (Plasma Rich in Growth Factors) es una técnica novedosa y relativamente reciente aplicable a la reparación tisular (Gómez Martín y col. 2007). Sus predecesores fueron el adhesivo de fibrina, utilizado como hemostático y adhesivo quirúrgico, el fibrinógeno autólogo, con el que se preparaba el gel de fibrina autóloga y posteriormente, el plasma rico en plaquetas o PRP, el cual se mezcla con cloruro cálcico y trombina bovina para producir la agregación y desgranulación plaquetaria, obteniéndose factores de crecimiento. El PRP requiere grandes volúmenes de sangre, plantea dos ciclos de centrifugación a altas revoluciones y utiliza trombina bovina para su activación. Siguiendo los mismos principios del PRP, surge la técnica de obtención del PRGF, que requiere menores volúmenes de sangre, un equipamiento simple, no utiliza trombina bovina y plantea una sola centrifugación con menos revoluciones, preservando la integridad de la membrana plaquetaria, permitiendo así obtener una mayor concentración de factores de crecimiento; siendo un procedimiento económico, enormemente eficiente y 100% autólogo (Reyes y col. 2002).

Durante el proceso de elaboración de PRGF se emplea citrato sódico, como anticoagulante, y cloruro de calcio como activador plaquetario que convierte la solución en una matriz dinámica líquido-gel de fibrina que cuando se inyecta permite una localización espacial y entrega local y bifásica de factores de crecimiento. (Anitua y col, 2007). Esta red de fibrina no es inerte, y en ella se inician los mecanismos de la reparación, las células infiltradas utilizan receptores de membrana de tipo integrina que reconocen dominios específicos en la fibrina, la vitronectina, y la fibronectina e interactúan a través de ellos con dicha red tridimensional. Este hecho tiene mucha importancia porque estas interacciones de integrinas de la membrana celular con la red de fibrina influyen en la activación celular. La malla de fibrina facilita la adhesión y la proliferación celulares, y no produce inflamación, así mismo, su estructura tridimensional, promueve la angiogénesis en su interior, así como el depósito de matriz extracelular, dicha fibrina se reabsorbe una vez que ha servido como molde para la regeneración (Carrillo Poveda y col. 2013). El PRGF presenta una concentración

moderada de plaquetas (en torno a 2-3 veces los niveles basales), y se caracteriza por no contener ni células de la serie blanca ni eritrocitos. (Anitua y col. 2007)

Articulación metacarpo sesamoidea falangiana

La articulación del menudillo se encuentra formada por el extremo distal del metacarpiano III, el extremo proximal de la falange proximal y la parte proximal de los huesos sesamoideos.

Superficies articulares:

- Superficie del tercer metacarpiano.
- Superficie articular de la falange proximal.
- Superficie articular de los huesos sesamoideos.

Cápsula articular: Se inserta alrededor del borde de las superficies articulares, presenta divertículos hacia la cara dorsal y hacia la cara palmar, que forman el receso dorsal y receso palmar.

Ligamentos colaterales: Nacen en la fosita para la inserción del ligamento del hueso metacarpiano III y se insertan en la tuberosidad ligamentosa de la cuartilla.

Ligamentos sesamoideos:

- Ligamentos intersesamoideos.
- Ligamentos sesamoideos colaterales.
- Tendón interóseo o ligamento suspensor.
- Ligamentos sesamoideos distales.
- Ligamentos sesamoideos cortos.

Movimientos: Estos son de flexión y extensión y el eje del movimiento pasa a través de las inserciones proximales de los ligamentos colaterales.

El aparato de sustentación del menudillo está compuesto por el músculo interóseo medio, los huesos sesamoideos y los ligamentos sesamoideos medios y distales, y su cometido consiste en impedir una hiperextensión demasiado amplia de la articulación del menudillo durante el desplazamiento y amortiguar cargas extremas del miembro. (Sisson y col. 2001)

Fracturas de los huesos sesamoideos proximales

Las fracturas de los huesos sesamoideos proximales son lesiones frecuentes en la articulación del menudillo. Estas fracturas pueden ser apicales, abaxiales (articulares y no articulares), de la mitad del cuerpo, basilares (articulares y no articulares), sagitales y conminutas.

Las fracturas apicales son las más habituales, estas incluyen todas las fracturas transversas que involucran el tercio o al menos la porción proximal del hueso. Los signos clínicos incluyen efusión articular y dolor a la flexión. (Bertone, 2011)

Etiología

Las causas de las fracturas de los huesos sesamoideos proximales incluyen la excesiva fuerza de tracción y el trauma directo del hueso. Otros factores tales como un mal entrenamiento, el desvasado y el herraje inapropiados y la mala conformación crean un estrés adicional sobre este hueso cuando el caballo se ejercita y compite. (Bertone, 2011)

Signos Clínicos

Es factible la fractura del sesamoideo medial, del lateral, o de ambos. La claudicación es muy pronunciada en los estadios agudos. El caballo rechaza apoyar con el miembro y no permite que el nudo descienda hasta una posición normal durante el apoyo. La deformación, el calor y el dolor son notorios en la región del nudo. El caballo evidencia dolor cuando se aplica presión sobre los huesos afectados y cuando desciende el nudo durante el apoyo (Bertone, 2011).

Diagnóstico

El diagnóstico se basa en el examen radiográfico del nudo afectado y los cambios físicos descriptos (Bertone, 2011).

Tratamiento

Aunque muchas fracturas apicales presentan un desplazamiento mínimo, la unión fibrosa es el resultado más común en los caballos tratados sólo con reposo. En dos importantes estudios acerca de fracturas apicales se llegó a la conclusión de que la escisión del fragmento es el tratamiento de elección. El período de reposo posquirúrgico depende del tamaño del fragmento. Con los más pequeños, el caballo puede comenzar a caminar pocas semanas después de la cirugía y puede volver al entrenamiento en 2 a 3 meses. Con los fragmentos más grandes, que involucran la mayor parte de la inserción

del ligamento suspensorio, se debe prescribir reposo durante 6 meses o más (Colahan y col. 1998).

Pronóstico

El pronóstico para las fracturas sesamoideas apicales es bueno a excelente (88% de los Standardbred y 77% de los Pura Sangre retornando a las carreras), para las fracturas abaxiales es bueno (71% de los Pura Sangre y Cuarto de Milla retornaron a las carreras), para las basales es regular (50-60% de los Pura Sangre retornaron a las carreras), y para las fracturas del sector medio del cuerpo reparadas mediante compresión interfragmentaria con tornillo o alambre circunferencial es regular (44-60% de los caballos retornaron a las carreras). El pronóstico para las fracturas de los huesos sesamoideos con pérdida o ruptura del aparato suspensor es malo y solo debe considerarse el salvataje de los animales que puedan ingresar a un programa de reproducción o posean un gran valor sentimental (Bertone, 2011).

Objetivos

Objetivo General:

- Conocer el efecto del plasma rico en factores de crecimiento en la consolidación de fracturas óseas.

Objetivos Particulares:

- Evaluar la evolución de una fractura apical del hueso sesamoideo medial del miembro anterior derecho de un equino Cuarto de Milla luego de la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento.
- Determinar la efectividad y la seguridad del tratamiento con plasma rico en factores de crecimiento en una fractura ósea.
- Valorar la progresión radiológica de la fractura.

Materiales y métodos

Ámbito de estudio

Hospital Escuela, área de Grandes Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE, ubicado en calle Sargento Cabral 2139 de la Ciudad de Corrientes Capital, en el mes de mayo de 2019.

Paciente

Equino macho, nombre Luchy, raza Cuarto de Milla, peso 450 kg, edad 5 años.
Proveniente de la Ciudad de Corrientes.

Motivo de consulta

El caballo comenzó a "manquear" durante un entrenamiento.

Anamnesis

Se presenta a la consulta el paciente "Luchy" porque durante un entrenamiento comenzó a "manquear" de su mano derecha. Fue medicado con Fenilbutazona, pero no mostró mejoría, por lo que su propietario decidió traerlo al hospital para realizar un examen completo.

Examen objetivo general

- Facie: Normal, compuesta, simétrica e inteligente.
- Actitud a la estación: Anormal. Miembro anterior derecho en descanso.
- Actitud a la marcha: Anormal. Presentó una claudicación de apoyo grado 2/5 del miembro anterior derecho.
- Actitud al decúbito: No se observó.
- Estado de nutrición: Muy bueno.
- Conformación: Longilíneo.
- Constitución: Fuerte.
- Temperamento: Sanguíneo.
- Examen de conjuntivas y mucosas aparentes:
 - Conjuntiva óculo palpebral: Normal.
 - Mucosa bucal: Normal.
 - Mucosa nasal: Normal.
 - Mucosa prepucial: Normal.

Parámetros

- Frecuencia cardiaca: 42 latidos/minuto
- Frecuencia respiratoria: 14 movimientos/minuto
- Tiempo de llenado capilar: 2"
- Temperatura: 37,9°C
- Hidratación: Normal

Examen objetivo particular

- Sistema Linfático: Normal.
- Sistema respiratorio: Normal.
- Sistema circulatorio: Normal.
- Sistema digestivo: Normal.
- Aparato auditivo: Normal.
- Aparato de la visión: Normal.
- Aparato genital: Normal.
- Piel y anexos cutáneos: Normal.
- Aparato locomotor: Anormal.

Inspección

Claudicación de grado 2/5 del miembro anterior derecho. Se observó distención a nivel del nudo.

Palpación

El caballo evidenció dolor durante la palpación y flexión forzada del nudo.

Examen radiográfico de la articulación afectada y Diagnóstico

Mediante el examen radiográfico se confirmó una fractura apical del hueso sesamoideo medial del miembro anterior derecho, sin desplazamiento del fragmento óseo. (Figuras 1 y 2 anexos)

Extracción de sangre

Se extrajo sangre del equino, realizando antisepsia sobre el surco yugular con alcohol 96°, por venopunción de la yugular externa, con aguja hipodérmica 1.2x40mm y se recolectaron 25 ml de sangre, los cuales fueron distribuidos en 5 tubos de hemólisis con 0,5 ml de citrato de sodio 3,8% (como anticoagulante) con 5 ml de sangre cada uno.

Preparación del plasma rico en factores de crecimiento

Las plaquetas se separan del plasma y del resto de células sanguíneas por centrifugación antes de aplicarse directamente en el tejido a tratar. Mientras las plaquetas continúan suspendidas en el plasma sanguíneo, los glóbulos rojos y los glóbulos blancos sedimentarán en la parte inferior del tubo dando como resultado la

separación típica de tres capas. En la parte superior, una capa amarillenta de plasma, que presenta un gradiente plaquetario, con concentración máxima de plaquetas por encima de la capa leucocitaria (en la parte de abajo con aumento de plaquetas de 2-3 veces con respecto al valor de la sangre total, en comparación con 1-1.5 veces en la parte superior del plasma); debajo de la capa de plasma, los glóbulos blancos (la capa conocida como el *buffy coat*); y la capa inferior, que contiene principalmente los glóbulos rojos. Tras esta deconstrucción, la fracción plasmática sobre los glóbulos blancos se recolecta y obtenemos un líquido formado por plasma donde se encuentran suspendidas las plaquetas en concentración supra fisiológica, aproximadamente 2,5 veces el valor de plaquetas en sangre periférica, y poco a poco se distribuye en el líquido. De esta manera, con respecto al plasma, es posible diferenciar entre dos fracciones diferentes, que dependen de su respectiva concentración de plaquetas, la fracción superior (F1) contendrá un número similar de plaquetas al de sangre periférica, mientras que la fracción inferior (F2) contendrá 2-3 veces la concentración de plaquetas en comparación con la sangre periférica (Anitua y col. 2019)

Se centrifugó la sangre de cuatro tubos a temperatura ambiente, a 1800 rpm durante 8 minutos. Al finalizar la centrifugación, los tubos se llevaron a cabina de seguridad biológica y con jeringa estéril de 3 ml y aguja hipodérmica 1.2x40mm se extrajo la fracción correspondiente al plasma rico en plaquetas. Se recolectaron 0,5 ml de plasma rico en plaquetas de cada uno de los tubos (2 ml totales). Para provocar la formación del coágulo y liberación de factores de crecimiento plaquetario se agregó 0,1 ml de Cloruro de Calcio al 10% en 2 ml de plasma, como activador, lo que corresponde a 50 microlitros de Cloruro de Calcio cada 1 ml de plasma. (PRGF System III, BTI, Vitoria). El quinto tubo se utilizó para realizar el recuento plaquetario. (Figuras 3, 4 y 5, anexos).

Aplicación de plasma rico en factores de crecimiento

La región a infiltrar (región apical del hueso sesamoideo medial del miembro anterior derecho) fue embrocada con Yodopovidona al 5% y alcohol 96°. Se infiltraron 3 ml de Lidocaína 2% con el objetivo de insensibilizar la región. (Figura 6, anexos)

Posteriormente se realizó una punción ecoguiada para lograr la infiltración de 2 ml de PRGF en la línea de fractura. (Figura 7, anexos)

Seguimiento de la evolución del tratamiento

Se realizaron tres aplicaciones mediante punción ecoguiada con intervalo de 21 días y controles radiográficos cada 14 días. (Figuras 8, 9, 10 y 11, anexos)

El caballo permaneció en reposo a box durante todo el tratamiento.

Resultados

El resultado fue una evolución clínica y radiológica favorable y la consolidación total de la línea de fractura en 71 días. El plasma original tenía 104×10^3 plaquetas/ μL y fue concentrado a 226×10^3 plaquetas/ μL con una única centrifugación. La infiltración no generó ningún tipo de efecto negativo clínicamente evidente.

Discusión

Según Marx (1998) todas las técnicas utilizadas para preparar concentrados autólogos de plaquetas presentan ventajas e inconvenientes. Aún no se ha desarrollado un método o dispositivo ideal para concentrar plaquetas y factores de crecimiento. En el presente trabajo, el protocolo utilizado para la obtención de plasma fue Endoret® (PRGF). De acuerdo con esto, podríamos suponer que el PRGF se obtuvo siguiendo el protocolo humano.

Anitua (2018) cita que el protocolo de centrifugación de PRGF equino debe ser diferente al humano para lograr una concentración óptima de plaquetas, evitando la recolección de leucocitos. Nuestro estudio muestra resultados benéficos aún utilizando un protocolo humano.

Alcaraz Rubio (2015) y Carrasco (2009) citan que se necesitan más estudios científicos que permitan estandarizar las técnicas de obtención dependiendo de la composición celular y proteica del producto final conseguido, para valorar su verdadera utilidad clínica y poder protocolizar su uso. Haciendo referencia a la seguridad del tratamiento Alcaraz Rubio (2015) describe que durante el proceso de obtención, si bien existen numerosos protocolos, la normativa vigente distingue entre procedimiento de obtención abierto, donde hay una exposición directa de la sangre o cualquiera de sus componentes durante el proceso de manipulación al medio ambiente, en cuyo caso, todo el procedimiento debe realizarse de forma estéril y bajo una campana de flujo laminar; o procedimiento cerrado, utilizando filtros, en cuyo caso deben seguirse las normas del fabricante en concreto. Por otro lado, Herrera (2000) cita que, al utilizar un plasma autólogo, se evitan los riesgos de transmisión de enfermedades infectocontagiosas. En

este caso se utilizó el procedimiento de obtención abierto, adoptando todas las medidas de asepsia y seguridad necesarias. La infiltración no generó ningún tipo de efecto negativo clínicamente evidente.

Según Colahan (1998) el tratamiento de elección para este tipo de lesiones es la escisión quirúrgica del fragmento, con tiempos de recuperación que varían entre 2 a 6 meses o más, dependiendo del tamaño del fragmento óseo. Nuestro estudio demuestra que la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento es una alternativa viable, siempre que la fractura se presente sin desplazamiento del fragmento óseo, y el tiempo de recuperación puede ser similar o menor al logrado con escisión quirúrgica del fragmento.

Conclusión

Se concluye que el método de regeneración ósea basado en la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) es una alternativa más a tener en cuenta considerando los altos costos y factibilidad de una cirugía reparadora, además del bajo índice de recuperación post quirúrgica.

Es necesario seguir investigando acerca de la utilización de PRGF como terapia alternativa para mejorar y acelerar los procesos regenerativos en lesiones óseas.

La utilización de proteínas autogénicas del paciente, reduce mucho el riesgo de fracaso del tratamiento ya que se evitan entre otros muchos factores el rechazo tisular y las reacciones adversas al preparado de aplicación en el tejido traumatizado.

Anexos



Figuras 1 y 2: Primer estudio radiográfico. Las flechas indican la línea de fractura.

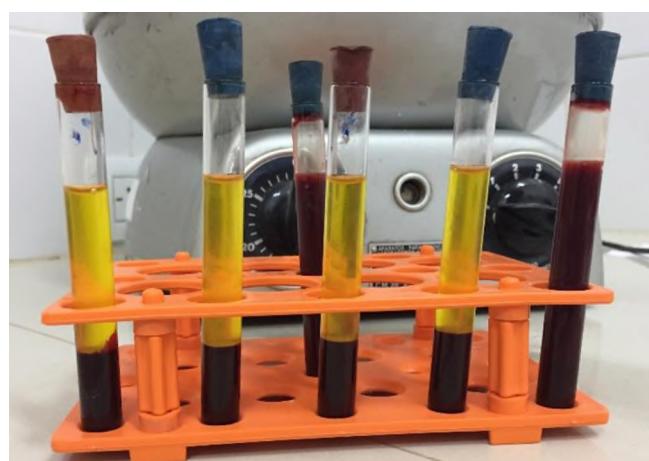


Figura 3: Tubos de sangre luego de la centrifugación.

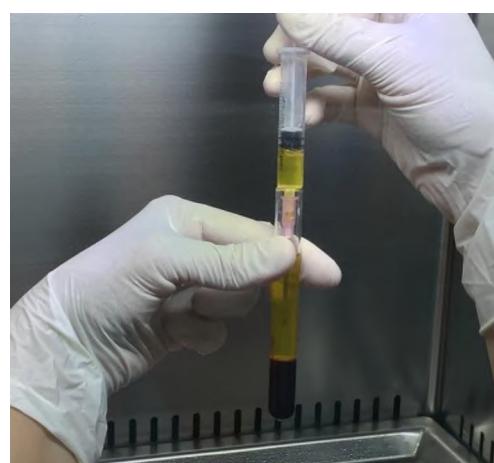


Figura 4: Extracción de la fracción de plasma rica en factores de crecimiento.



Figura 5: Activación del plasma con Cloruro de Calcio.



Figura 6: Aplicación de Lidocaína para insensibilizar la región.



Figura 7: Aplicación de plasma mediante punción ecoguiada.



Figuras: 8, 9, 10 y 11: Seguimiento de la evolución de la fractura. Radiografías tomadas cada 14 días. Las flechas indican la línea de fractura. Nótese en la última imagen una consolidación total de la línea de fractura.

Bibliografía

1. Anitua, E., Muruzabal, F., Prado R. & Merayo Lloves, J., (2018) PRGF in equine corneal cells: A standardised protocol is the key to achieve accurate results. *Equine Veterinary Journal*, 50, p. 274-275
2. Anitua E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. *Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF)*. Puesta al día publicaciones, S.L. Victoria-Spain. 2000.
3. Anitua E., Padilla S. *Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF): cuando los factores de crecimiento se encuentran con la fibrina*. Dossier Científico. Vitoria-España. 2019.
4. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials* 2007; 28:4551-60.
5. Alcaraz-Rubio J, Oliver-Iguacel A, Sánchez-López JM. Plasma rico en factores de crecimiento plaquetario. Una nueva puerta a la Medicina regenerativa. *Rev Hematol Mex* 2015;16:128-142.
6. Bertone, AL. 2011. Baxter, G. *The fetlock. Adams and Stashak's lameness in the horse*. Blackwell Publishing. 6th Edition. Vol 2, cap 5, p.644-651.
7. Carrillo Poveda, J. y Zaragoza, M. (2013). *Manual práctico de traumatología y ortopedia en pequeños animales*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Editorial Intermédica. Vol 1, cap 17, p 260-264.
8. Carrasco, J., Bonete, D., Gomar, F. *Plasma Rico en Plaquetas vs. Plasma rico en factores de crecimiento*. *Revista Española de Cirugía Osteoarticular*. 2009; 46:127-140.
9. Colahan, PT., Mayhew, IG., Merritt, AM., Moore, JN., Intermédica(1998) *Medicina y cirugía equina*. 4ta Edición, Volumen II, Cap12, p 1278-1284
10. Fernández López RG, López Buendía MC, Ruiz González E. *Plasma Rico en Factores de Crecimiento en cirugía bucal*. Presentación de caso clínico. *Revista Odontológica Mexicana* 2005; 9: 141-6
11. Gómez Martín B, Becerro de Bengoa Vallejo R, Losa Iglesias ME, Sánchez Gómez R. *Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF)*. *Revista Internacional de Ciencias Podológicas* 2007;1(1):7-10.
12. Herrera F, Sapia M, Scadding G. (2000) *Regeneración ósea. Plasma rico en plaquetas*. Escuela superior de implantología-Bs.As. Argentina. www.esiargentina.com.ar/trab_plasma.htm

13. Marx RE, ER Carlson, RM Eichstaedt, SR Schimmele, JE Strauss, KR Georgeff. 1998. Platelet rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85, 638-646.
14. Molloy T., Wang Y., Murrell G.A. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sport Medicine.*, 2003; 33 (5): 381-394
15. Peñarrocha M, Sanchís JM, Martínez JM. Factores de crecimiento y proteínas que influyen en el crecimiento óseo: aplicaciones en implantología oral. *Periodoncia.* 2001;11:205-16.
16. Reyes, M., Montero, S., Cifuentes, J., Zarzar, E. Actualización de la Técnica de Obtención y Uso del Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F). *Revista Dental de Chile.* 2002; 93 (2): 25-28.
17. Sisson S, Grossman J D, Getty R. (2001) *Anatomía de los animales domésticos.* 5º Edición. Barcelona Editorial Elsevier. Capítulo 16 p. 402-404