



Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Veterinarias.

Corrientes- Argentina.

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

-MODULO DE INTENSIFICACION PRÁCTICA-

- Opción: Clínica de Pequeños Animales.
- Tema: **Obtención de plasma rico en plaquetas y su utilización en fracturas con no unión en perros.**
- Tutor externo: MV. *Gaona, José Leandro*
- Tutor interno: MV. *López Ramos, Mayra Luz*
- Residente: *Baez, Xoana Elizabeth*
- E-mail: baezalma24@gmail.com

Año: 2021

INDICE

Resumen	Pág. 2
Introducción	Pág. 3
Objetivos.....	Pág. 17
Materiales y Métodos.....	Pág. 17
Resultados	Pág. 22
Discusión.....	Pág. 23
Conclusión.....	Pág. 24
Bibliografía.....	Pág. 25

RESUMEN

El presente trabajo propone el empleo de plasma rico en plaquetas como alternativa de tratamiento viable para fracturas que presenten no unión en pacientes caninos. La mayoría de las investigaciones sobre PRP se han centrado en sus efectos sobre los tejidos conectivos, como tendones, ligamento y el músculo. No se encontraron reportes de la utilización de PRP como tratamiento coadyuvante en reparaciones de fracturas con diagnóstico de no unión, según clasificación de Weber y Cech (Piermattei, 2007), en perros. (Dohan y col. 2008). El PRP, es un derivado de plaquetas empleado por aplicación directa en lesiones, para favorecer la regeneración y cicatrización de tejidos duros y blandos.

El caso clínico se presentó en la Clínica Veterinaria “Mundo Veterinario” de la ciudad de Resistencia, Chaco, en el mes de noviembre de 2019. La paciente había sido sometida a cirugía anteriormente (45 días) por presentar fractura en dicho miembro. Al momento de la consulta el animal se encontraba con una no unión de los cabos fracturarios (anteriormente reestablecidos) en el tiempo esperado para la consolidación de la fractura.

Las plaquetas se separan del plasma y del resto de las células sanguíneas por centrifugación antes de aplicarse directamente en el tejido a tratar. (Loera Torres, 2014).

El procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas se realiza mediante venopunción, mantenida y transportada por tubos vacutainer con citrato de sodio 3,8% P/V, obtenida aproximadamente 30 minutos antes del acto quirúrgico. Terminado el proceso de colocación de tutores externos e internos se coloca de forma intralesional del plasma activado con cloruro de calcio.

Tras el análisis y seguimiento radiográfico de la resolución de la fractura del hueso tibial, sumado al uso de plasma rico en plaquetas, responden con una rápida rehabilitación, acelerando el proceso de resolución de la fractura.

El método de regeneración tisular basado en la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento, se plantea como una alternativa más a tener en cuenta sobre todo en aquellos casos donde los tratamientos convencionales resulten ineficaces. Por lo que se concluye que la aplicación del plasma por infiltración intralesional reduce el tiempo de reparación de fracturas durante la reducción cerrada. (Loera Torres, 2014)

INTRODUCCION

La mayoría de las investigaciones sobre el plasma rico en plaquetas (PRP) se han centrado en sus efectos sobre los tejidos conectivos, como tendones, ligamento y el músculo. Pocos estudios mencionan su empleo para promover la osteogénesis. (Mendoza Ramírez, 2015) Considerando la búsqueda de un material bioactivo con capacidad de diferenciación osteoblástica que favorezca la regeneración (Beca, 2007).

Los reportes en medicina veterinaria son escasos y el área donde más uso se ha dado es en medicina equina. En ella se ha descrito el uso de plasma rico en plaquetas en patologías de los tendones y articulaciones, donde los estudios revelan ventajas comparativas en términos de recuperación de la movilidad, disminución del dolor, mejoría clínica de la claudicación, tiempos de retorno al ejercicio acelerados, menores recidivas y evidente recuperación ecográfica de las estructuras dañadas, permitiendo que los tendones tratados con PRP posean una alta resistencia a las fuerzas de trabajo. (Faúndez, 2010).

La necesidad de reparar defectos óseos de diferente etiología, magnitud y localización ha estimulado enormemente la búsqueda y desarrollo de materiales capaces de sustituir al hueso. Cada vez se hace más necesaria la utilización de una serie de sustancias promotoras del crecimiento en las zonas donde el sistema musculo esquelético tiene una lesión, con un importante papel en la reparación ósea. (Carrasco, 2009) Este es un volumen de plasma extraído del propio paciente, por tanto, no es tóxico ni inmunorreactivo para el mismo el cual contiene una cantidad de plaquetas cinco veces mayor que la que se encuentra en la sangre normal. Las plaquetas se separan del plasma y del resto de las células sanguíneas por centrifugación antes de aplicarse directamente en el tejido a tratar. (Gómez Martín, 2006).

Utilidad del plasma rico en plaquetas y factores de crecimiento en defectos óseos:

Las plaquetas desempeñan un papel crucial en el proceso de curación de heridas gracias a su función hemostática y a la presencia de citoquinas y factores de crecimiento. Dichos factores son un grupo de sustancias polipeptídicas solubles y difusibles que regulan el crecimiento, la diferenciación, la proliferación y el metabolismo celular de numerosos tipos celulares. Promueven la regeneración endotelial y epitelial, estimulan la angiogénesis, la síntesis de colágeno, la curación de tejidos blandos y la hemostasia. El uso de factores de crecimiento para promover la cicatrización cutánea ha existido desde la década de 1940, y se pueden aplicar en una amplia gama de formas, ya sea mediante la administración tópica o intralesional tradicional o incluso terapia génica. (Chicharro Alcántara, 2018).

Una característica relevante del plasma rico en plaquetas es la ausencia de reacciones inmunogénicas y la nula posibilidad de transmitir enfermedades, cuando se trata de un producto autólogo. (Faúndez, 2010).

El plasma pobre en plaquetas fue descrito por primera vez en 1972 como gel o goma de fibrina. Matras fue el primero que describió el uso de una goma de fibrina en la reparación de un nervio periférico. En 1994, se empezó a utilizar un adhesivo de fibrina autógena en el hueso esponjoso durante una reconstrucción mandibular, observaron una consolidación ósea precoz, reduciendo el tiempo de reparación de 8 semanas a 4 semanas, que se atribuyó al mayor número de células osteocomponentes que quedaron en la red de fibrina. En 1997,

Whitman utilizó el gel de plaquetas en cirugía oral y maxilofacial. Posteriormente se desarrolló la técnica del gel plaquetario con todas las proteínas plaquetarias y la menor concentración de fibrinógeno. (Carrasco, 2009).

Todos los geles de fibrina replican el resultado final de la cascada de la coagulación en la que el fibrinógeno es convertido en fibrina en presencia de trombina y calcio, esto produce un coágulo de fibrina en el sitio de aplicación. El plasma rico en plaquetas, es un gel adhesivo de fibrina producido de plasma en que se encuentran concentradas las plaquetas (PRP). (Saluzzi, 2007).

El Plasma Rico en Plaquetas consiste en un volumen de plasma sanguíneo, el cual contiene alta concentración de plaquetas (incluyendo factores de crecimiento), (Loera Torres, 2014) superior a los valores basales. (Carrasco, 2009) Es una técnica novedosa y relativamente reciente aplicable a la reparación tisular. Consiste en un sencillo sistema para la obtención de proteínas plaquetarias y plasmáticas autólogas a partir de una muestra de sangre del paciente, (Loera Torres, 2014) es la combinación de factores de crecimientos naturales dentro de un coagulo normal que actúa como portador. Contiene dos tipos de componentes; uno fibrilar y otro celular, esta estructura le permite actuar como vehículo para transportar células y moléculas proteicas. Dicho coagulo se compone de fibrina, fibronectina y vitronectina, son moléculas de adhesión celular requeridas para la migración celular. (Carrasco, 2009).

El uso de plasma rico en plaquetas como facilitador del crecimiento tisular ha sido empleado en diversas áreas de la cirugía encontrándose una considerable cantidad de experiencias en el área de cirugía periodontal y maxilofacial en humanos. (Faúndez, 2010).

Los beneficios reportados en la práctica clínica incluyen: regeneración ósea, reducción de hemorragias y regeneración de tejidos. (Faúndez,2010) Además, se utiliza en patologías musculo-esqueléticas, demostrando un efecto potencial en la reparación de lesiones a través de modificar el proceso de cicatrización, regulan citocinas que intervienen en el proceso de neovascularización, la proliferación de tenocitos, fibroblastos, miocitos y condrocitos, así como el reclutamiento de células proinflamatorias (IL-1), con actividad antiinflamatoria y regenerativa. Además, se aplica en osteoartritis evidenciando en cultivos *in vitro* de condrocitos expuestos al plasma rico en plaquetas, han demostrado un incremento en la proliferación celular, en la síntesis de glucosaminoglicanos y colágeno tipo II. (Carrillo Mora, 2013).

Método de obtención y aplicaciones

El PRP se considera como un biomaterial regenerativo que actúa mediante una matriz polimerizada de fibrina rica en plaquetas, leucocitos y citoquinas que favorecen la circulación de las células madres, proliferación de fibroblastos y síntesis de colágeno tipo I. (Carrasco, 2009) Se emplea para el manejo de heridas quirúrgicas diversas, como ser en ginecología, cirugías cardiovasculares, cirugías generales y plásticas, quemaduras, aplicación en úlceras diabéticas crónicas (acelerando significativamente el cierre de las mismas y disminuye el dolor), oftalmología (incrementando la migración y proliferación de queratinocitos y fibroblastos conjuntivales), otorrinolaringología (cierre más rápido de la membrana timpánica cuando hay perforación), dermatología y cirugía cosmética (mejorando la

elasticidad de la piel y la densidad colágena de la misma) y en nervios periféricos (mejorando al recuperación neurofisiológica y mielinización) (Carrillo Mora, 2013).

Se aplica clínicamente en tendinopatías, ruptura del tendón de Aquiles, lesión del ligamento cruzado anterior, desgarros musculares, fracturas y sus componentes (retardo de la consolidación y no unión), entre otros. (Carrillo Mora, 2013) Otra característica es la capacidad de inducir la secreción de una molécula llamada osteoprotegerina, una proteína capaz de retardar e incluso inhibir la formación de osteoclastos, encargados de la resorción de la matriz ósea. (Faúndez, 2010).

Se dice que el sustituto óseo ideal debe ser osteogénico, osteoinductivo y osteoconductor. El término osteogénesis hace alusión a la formación y desarrollo de hueso en sentido genérico. Un material es osteogénico si se deriva o se compone de tejido involucrado en la formación de hueso. La osteoinducción es el proceso de estimulación de la osteogénesis. Para que un injerto sea osteoinductivo es preciso que sea capaz de formar hueso en áreas donde no se forma normalmente. Se entiende como osteoconducción a la capacidad de ciertos materiales de formar una matriz a través de la cual se puede depositar nuevo hueso. Los injertos osteoconductivos permiten la proliferación del tejido óseo desde las zonas anatómicas óseas preexistentes. (Beca, 2007)

Las plaquetas sanguíneas (trombocitos) en los mamíferos son fragmentos celulares anucleados, diminutos, redondos a ovales, que se forman a partir de los cilindros de citoplasma de los megacariocitos. Tienen un lapso de vida de 5 a 10 días en la mayoría de los animales domésticos. Los recuentos plaquetarios normales varían de acuerdo con la especie, con valores de referencia mínimos de apenas 100.000/ml en los equinos y máximos de 800.000/ ml en varias especies de animales domésticos. Las cantidades normalmente presentes en la sangre superan en mucho a las necesarias para una hemostasia apropiada. (Meyer, 2000). Los valores de referencia en pequeños animales varían según el laboratorio, estimándose en perros valores de $10^9/L$ 200-500 (parámetro – unidad de sistema internacional) (Muñoz, 2015). El bazo almacena cerca de un tercio de la masa plaquetaria total. Las plaquetas son liberadas desde el bazo con la estimulación α -adrenérgica como sucede durante la actividad física. Liberan gránulos δ y α , estos últimos son secretados cuando se activan las plaquetas. Algunos de los contenidos de estos gránulos α son sintetizados por los megacariocitos y otros son captados desde el plasma. Los contenidos de los gránulos varían según las especies. Los contenidos que pueden estar presentes incluyen proteínas adhesivas (factor de Von Willebrand [FvW], fibrinógeno, fibronectina, trombospondina), factores de coagulación V y XI, inhibidores fibrinolíticos (inhibidor del activador del plasminógeno, inhibidor de α_2 plasmina), factor plaquetario 4 (FP 4), (una proteína que neutraliza las moléculas del tipo heparina), selectina P y otros componentes incluyendo factores leucotácticos, mitogénicos y de permeabilidad vascular y la familia de proteínas b-tromboglobulina de función desconocida. (Meyer, 2000).

Se forman en la médula ósea, ayudan a prevenir la pérdida de sangre en las heridas vasculares, para ello adhieren agregados y forman una superficie precoagulante favoreciendo la generación de trombina y fibrina. Aparecen inmediatamente en el lugar de la herida en grandes cantidades y crean el ambiente local necesario para la regeneración tisular gracias a la liberación de proteínas secretadas por la activación de los gránulos α , que contienen más

de 30 proteínas bioactivas, muchas de las cuales tienen un papel fundamental en la hemostasia y / o reparación de tejidos. (Carrasco, 2009).

Las plaquetas expresan diversas moléculas glucoproteicas sobre sus superficies que son necesarias para la adhesión normal (plaqueta a matriz extracelular) y agregación (unión plaqueta a plaqueta). (Meyer, 2000)

Son indispensables para la formación del trombo primario, sin embargo, también juegan un papel importante y activo en la inflamación, inmunidad, progresión tumoral y por supuesto, en la trombosis. (Carrillo Mora, 2013) Poseen estructuras como mitocondrias, microtúbulos y gránulos (alfa, delta y gamma) (Faúndez, 2010). Contienen innumerables sustancias que contribuyen en la homeostasia primaria incluyendo serotonina, catecolamina, ADP, ATP, fibrinógeno, factor V, y un número de importantes proteínas llamadas factores de crecimiento plaquetario que aceleran los procesos de reparación de los tejidos y huesos. (Saluzzi, 2007) Tabla 1.

Contenido	Función
Quimiocinas, Citocinas	Regulación de inflamación, quimiotaxis.
Factor plaquetario 4	
β tromboglobulina	
RANTES	
Proteína inflamatoria de macrófagos 1 α	
Interleucina 1, Interleucina 8	Interacciones celulares, coagulación
Proteínas adhesivas	
Trombospondina 1 y 2	
Fibrinógeno	
Fibronectina	
Factores de crecimiento	Proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, angiogénesis, síntesis de matriz extracelular.
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	
Factor de crecimiento transformante β (TGF β)	
Factor de crecimiento epidérmico o epitelial (EGF)	
Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)	
Factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I)	
Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)	Función inmunológica
Inmunoglobulinas	
IgA, IgE, IgM e IgG.	Producción de trombina
Factores de la coagulación (V y VIII)	
Factor de von Willebrand	Adherencia plaquetaria a la colágena del subendotelio
Inhibidor del activador de Plasminógeno	Inhibición de la fibrinólisis
P-selectina	Interacción leucocito-plaqueta

Los gránulos alfa contienen una gran cantidad de factores de crecimiento, proteínas adhesivas y factores procoagulantes. RANTES: Regulated on activation normal T cell expressed and secreted.

Tabla 1. Contenido y función de los componentes plaquetarios. (Carrillo Mora, 2013).

Recientemente se ha demostrado que los factores obtenidos de plaquetas son muy efectivos en promover la expansión de la médula ósea. Los factores derivados de plaquetas poseen la capacidad de inducir la formación de cartílago. (Faúndez, 2010) Tienen una función fisiológica muy importante ya que son portadoras de proteínas con un papel fundamental en la reparación y regeneración tisular. Se ha descrito que, al iniciarse el proceso de

cicatrización, cuando se forma el coágulo y las plaquetas se granulan, éstas y otros factores de crecimientos son liberados. Es decir, que, a mayor número de plaquetas en el foco de la lesión, mayor liberación de esos factores. (Gómez Martín, 2006)

Es obtenido a partir de la sangre autóloga mediante centrifugación, en este procedimiento se recomienda utilizar tubos de plástico, debido a que el vidrio puede activar la cascada de coagulación. Se recomienda especial énfasis en las condiciones de esterilidad para evitar la contaminación y el riesgo de infección. (Carrillo Mora, 2013)

La coagulación se previene en las muestras de sangre con el empleo de queladores del ion calcio (ácido etilendiaminotetraacético [EDTA] y citrato) o heparina en los tubos de recolección. El EDTA es el anticoagulante preferido para las determinaciones del hemograma completo en la mayoría de las especies. Para la sangre de algunas aves y reptiles hemoliza cuando se recolecta con EDTA. En aquellas especies, la heparina suele utilizarse como anticoagulante. El citrato es el anticoagulante preferido para recolectar plasma para estudios de la coagulación y plaquetas para estudios funcionales correspondientes. También es utilizado en la recolección y almacenamiento de la sangre para las transfusiones. Se puede optar por activar con 1 ml de sangre autóloga y algo de hueso esponjoso autógeno, ya que ambos contienen trombina (Meyer, 2000).

Las plaquetas se separan del plasma y del resto de las células sanguíneas por centrifugación antes de aplicarse directamente en el tejido a tratar. No obstante, la sencillez en la aplicación y obtención de este preparado, debe llevarse a cabo de acuerdo con unos protocolos estandarizados y diseñados por diferentes autores y laboratorios. (Loera Torres, 2014).

El sistema de separación de los componentes de la sangre de acuerdo a sus diferentes densidades mediante centrifugado, ofrece la posibilidad de obtener en corto tiempo un concentrado de plaquetas a partir de una pequeña cantidad de sangre obtenida del paciente antes de la cirugía. (Mendieta Archundia, 2007)

La centrifugación se realiza a 1.800 r.p.m. durante 8 minutos, con este proceso se separan los distintos componentes de la sangre haciéndolos fácilmente manejables sin necesidad de microscopio ni técnicas complejas de laboratorio. Se utiliza citrato de sodio como anticoagulante y cloruro de calcio al 10 %, el cual promueve la formación de trombina imitando el proceso fisiológico de coagulación y la liberación de los factores de crecimiento con potencial terapéutico, útiles en la reparación de los tejidos, de este modo se consigue la formación de un tapón gelatinoso de fácil manejo para el profesional y se evita la presencia de reacciones inmunológicas así como la transmisión de enfermedades contagiosas asociadas al uso de xenoinjertos como la trombina de origen bovino. El calcio es el principal responsable de la transformación de la protrombina en trombina y ésta es la iniciadora de la formación del coágulo mediante una red de fibrina que sirve de anclaje a las plaquetas. (Loera Torres, 2014)

Una vez obtenido el plasma rico en plaquetas, éste ya puede aplicarse al lecho mezclado con un material de injerto o bien utilizarse sin mezclar, y se puede aplicar en el lecho activándolo o no previamente. Puede activarse solo (tarda demasiado) o mediante compuestos cálcicos, para ello hay que esperar entre 8 y 10 minutos o más, con resultados variables. (Beca, 2007)

La mayoría de los procesos de activación del plasma se basan en la adición de trombina exógena, aunque algunos autores lo utilizan en conjunción con Cloruro de Calcio. Para

producir una estabilidad se suele utilizar cloruro de calcio más trombina exógena para activar las plaquetas y los residuos de fibrina. Los métodos de obtención de concentrado de plaquetas sin la adición de trombina consiguen la liberación paulatina de factores de crecimiento durante al menos 7 días. (Carrasco, 2009)

Factores de crecimiento

El termino factor de crecimiento se refiere a una serie de proteínas que estimulan el proceso de proliferación celular y/o la diferenciación de células blanco. Estas proteínas son secretadas activamente dentro de los 10 minutos después de la coagulación, con más del 95% de los factores de crecimiento presintetizados secretados en el intervalo de 1 hora. Después de esta primera segregación de los factores de crecimiento, las plaquetas sintetizan y secretan factores de crecimiento adicionales durante varios días tras la lesión. (Carrasco, 2009) Tienen tres tipos de acción; autocrina, paracrina y endocrina. Juegan un papel importante en la regulación del depósito de matriz extracelular. Una vez que un factor de crecimiento es activado, se une a una célula blanco receptora, ésta induce un sistema intracelular de transducción de señal que alcanza en última instancia el núcleo y produce una respuesta biológica activando un sistema de transcripción de señales. (Loera Torres, 2014)

Los factores bioactivos encontrados luego de la activación de las plaquetas contenidas en el PRP incluyen factores de crecimiento como; **factor de crecimiento-b**: (Faúndez, 2010) el cual estimula el depósito de matriz extracelular, (Loera Torres, 2014), proliferación y diferenciación de las células mesenquimales, síntesis de colágeno tipo I por los osteoblastos, pro-angiogénesis, inhibe la formación de osteoclastos, inhibe la proliferación de células epiteliales en presencia de otros factores, quimiotaxis, (Beca, 2007), estimulación de la actividad proliferativa de los fibroblastos, estimulación de la síntesis de fibronectina, estimulación de la formación de matriz ósea, (Faúndez, 2010) y **factor de crecimiento derivado de plaquetas o de origen plaquetario**: un potente agente quimiotáctico, (Loera Torres, 2014) activación de macrófagos e inducción de angiogénesis, quimiotaxis de fibroblastos con actividad proliferativa, estimulación de la síntesis de colágeno (Faúndez, 2010) tipo I (Beca, 2007), estimula la proliferación de células óseas, (Faúndez, 2010) mitógeno de células mesenquimales, es activador de macrófagos, facilita la formación de colágeno tipo 1, (Beca, 2007). Éstos han demostrado jugar un papel significativo en la regeneración y reparación del tejido conectivo. (Loera Torres, 2014) Juegan un rol importante en la recuperación de los tejidos. (Faúndez, 2010). De este modo se utilizan las plaquetas como fuente exógena de factores de crecimiento que actúan estimulando la actividad de las células óseas y células epiteliales. (Moreno, 2015) Tabla 2.

Otros factores de crecimiento producidos por las plaquetas y asociados a los procesos curativos incluyen; (Loera Torres, 2014) factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento fibroblástico, factor de crecimiento similar a la insulina y factor de crecimiento epidérmico. (Faúndez, 2010)

Factor de crecimiento (FC)	Origen	Función
FC Transformativo b (TGF b)	Plaquetas, matriz ósea y cartilaginosa, macrófagos, monocitos, neutrófilos, "natural killers" y células TH1 activadas.	Proliferación de células mesenquimales indiferenciadas; inhibición de la proliferación linfocitaria y macrofágica; interviene regulando: <ul style="list-style-type: none"> - Mitogénesis endotelial, fibroblástica y osteoblástica. - Síntesis de colágeno y secreción de colagenasas. - Efecto mitogénico de otros FC. - Quimiotaxis endotelial y angiogénesis.
FC fibroblástico básico (FGFb)	Plaquetas, macrófagos, células mesenquimales, condrocitos y osteoblastos.	Estimula mitogénesis, crecimiento y diferenciación de condrocitos y osteoblastos y la mitogénesis de células mesenquimales.
FC derivado de plaquetas (PDGF)	Plaquetas, osteoblastos, células endoteliales, macrófagos, monocitos, células musculares lisas.	Estimula mitogénesis de células mesenquimales y osteoblastos; mitogénesis y quimiotaxis de células estirpe fibroblástica, glial y muscular lisa; regula secreción colagenasas; estimula mitogénesis mesenquimal y epitelial.
FC del endotelio vascular (VEGF)	Plaquetas, células endoteliales.	Incrementa angiogénesis, permeabilidad vascular y mitogénesis de células endoteliales.
FC tejido conectivo (CTGF)	Plaquetas.	Promueve angiogénesis, regeneración condral, fibrosis y adhesión plaquetaria.
FC epidérmico (EGF)	Plaquetas, macrófagos y monocitos.	Estimula quimiotaxis endotelial y angiogénesis; regula secreción de colagenasas; estimula mitogénesis de células mesenquimales y epiteliales.
FC insulínico típico I (IGF)	Células Madres Mesenquimales.	Acción estimuladora de la síntesis de matriz ósea y actúa como agente quimiotáctico que favorece la neovascularización. De forma general, estimula el crecimiento, potencian la acción de la insulina y regulan la proliferación celular.

Tabla 2. Factores bioactivos contenidos luego de la activación en el PRP. (Moreno, 2015)

Lesiones óseas. clasificación y reparación de fracturas

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 a funcional en la zona traumatizada (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 a la restauración de un tejido, con células de distinta morfología a las originales y en consecuencia de distinta función. La regeneración celular, sin embargo, es un mecanismo de resolución de la lesión de un tejido donde 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. (Gómez Martin, 2006) Puede considerarse como un fenómeno regenerativo debido a que se reestablece la organización estructural característica, incluida la médula ósea y sus componentes (Carrasco, 2009).

El hueso se encuentra entre los pocos órganos que presentan procesos de regeneración más que una simple reparación. Cuando el hueso presenta soluciones de continuidad, ya sea por fracturas u otros defectos, se ponen en marcha de inmediato mecanismos osteoformadores con la finalidad de restaurar el tejido óseo en el lugar de la lesión. Habitualmente la biología del hueso es suficiente para reconstruir los defectos menores, no obstante, en pérdidas mayores de masa ósea es imprescindible recurrir al aporte de sustitutivos óseos para obtener la reparación. (Carrasco, 2009)

La cascada de inducción de formación de hueso ha sido dividida en tres fases: la fase inicial, involucra quimiotaxis de células del mesénquima y proliferación. Ésta es estimulada por factores de crecimiento. La segunda fase involucra la diferenciación de estas células primitivas en condroblastos y condrocitos con la proliferación subsecuente cuando los vasos sanguíneos invaden el cartílago. La tercera fase es la diferenciación de los osteoblastos y osteocitos seguida de producción de hueso y médula ósea. (Lora Torres, 2014).

Consolidación ósea

El proceso de consolidación normal cuando se produce una fractura, se puede dividir en fases, sin la intervención de profesionales, solo con la falta de apoyo del miembro afectado, en un animal se darán estos procesos: **Fase Inflamatoria** comienza con el hematoma formado a consecuencia de la ruptura de los vasos sanguíneos de la cavidad medular. Este hematoma actúa aportando factores de crecimiento que facilitan la angiogénesis y la futura formación de hueso. Según las tendencias actuales de osteosíntesis se intenta afectar lo menos posible al hematoma de la fase inflamatoria para contribuir al proceso de consolidación. En muchos es imposible respetarlo, por lo que la tendencia se inclina hacia la mínima invasión. La **Fase de Reparación** comienza con la formación de tejido de granulación generado a partir de la invasión del hematoma por vasos sanguíneos, células mononucleares y fibroblastos, lo que ya aporta una pequeña estabilidad a la fractura. El tejido de granulación madura a tejido conjuntivo, aumenta la cantidad de fibroblastos dándole mayor resistencia al callo óseo que se está formando, y aparecen condrocitos y osteoblastos a partir de células mesenquimales, estimulados por diferentes factores de crecimiento. Durante este periodo el periostio se engrosa formando un callo externo con aporte sanguíneo extraóseo y el endostio forma un callo interno a partir de los vasos medulares. En ambos casos comienza la aparición de fibrocartilago, que da mayor estabilidad a la fractura. Este callo se va mineralizando por la actuación de los condrocitos que comienzan su acción desde el exterior hacia el centro de la fractura. A las tres o cuatro semanas finaliza esta etapa y el animal es capaz de usar el miembro y hacer ejercicio de bajo impacto. La **Fase de Remodelación** puede durar de seis a doce meses, según la edad del animal. En ella, los osteoclastos y osteoblastos dan al hueso su estructura original, se forma de nuevo cortical y se abre el canal medular. Todos estos procesos detallados se denominan **consolidación ósea secundaria**. (Villar Estalote, 2019)

Las fracturas completas o conminutas son mucho menos frecuentes que en los adultos. En animales inmaduros también puede observarse fracturas que resultan de la debilidad de los huesos debido a una enfermedad ósea preexistente. Deben siempre considerarse como resultado de un desorden congénito o hereditario o, más habitualmente, debido a desequilibrios nutricionales que afectan a los huesos. En el tratamiento general, las estrategias tienen que ser simples e incluir sistemas de estabilización que puedan eliminarse pronto y fácilmente. La curación biológica rápida significa que muchas de estas fracturas pueden tratarse utilizando fijación externa o fijación esquelética externa. Sin embargo, antes de elegir el método de fijación hay que considerar, para cada caso individual, cuáles son los factores que favorecen la reparación y consolidación de las mismas y cuáles son los factores que afectan esa reparación. (Wheeler, 2002)

Los perros inmaduros suelen presentar fracturas en sus placas de crecimiento que merecen una consideración especial por parte del clínico y del cirujano. (Wheeler, 2002)

El tratamiento aplicado a la reducción de fracturas actualmente se basa en la fijación rígida interna por medio de placas y tornillos que fijan el hueso hasta consolidar, en su mayoría elaborados de materiales ajenos a la composición del hueso. (Loera Torres, 2014)

Cuando intervenimos una fractura y colocamos un implante que genera inmovilidad en la línea de fractura y un enfrentamiento de los fragmentos, buscamos una consolidación ósea primaria que se va a llevar a cabo por una proliferación osteonal con la formación, directamente, de hueso laminar. Este proceso se produce a través de los osteoblastos y osteoclastos que surgen de ambos lados de la fractura. En la mayoría de los procesos de osteosíntesis se produce una combinación de consolidación ósea primaria y secundaria, dependiendo del grado de posicionamiento, estabilidad, vascularización y sobreprotección. (Villar Estalote, 2019)

Al proceso de reparación ósea se ha sumado el uso de plasma sanguíneo rico en plaquetas (PRP), para promover y facilitar los mecanismos osteoformadores con la finalidad de restaurar el tejido en el lugar de la lesión. La aplicación de las proteínas liberadas a partir de las plaquetas es especialmente importante en condiciones patológicas como la curación de fracturas comprometidas. (Carrasco, 2009)

Actualmente el mejor sustituto óseo es el hueso mismo, ya sea autólogo, como el caso del autoinjerto óseo, continúa siendo el único biomaterial que posee la capacidad osteogénica, osteoinductora y osteoconductora, pero éste genera una gran morbilidad en la zona donante y su disponibilidad es limitada. El plasma rico en plaquetas no es osteoinductivo, no puede inducir la formación de hueso nuevo, (sólo las proteínas morfogénicas óseas lo inducen). Actúa sobre las células con capacidad de consolidación con el objeto de incrementar su número (mitogénicos) y estimular el crecimiento vascular interno (angiogénico) (Carrasco, 2009).

La mezcla de células, factores de crecimiento y el soporte estructural del coágulo o “scaffold” de PRP son los ingredientes esenciales para la ingeniería y fabricación de tejidos como el hueso, cartílago, tendón, ligamentos, etc., su uso puede conllevar beneficios terapéuticos significativos. (Loera Torres, 2014)

En los pacientes inmaduros el proceso de reparación y consolidación de una fractura diafisaria suele ser muy breve (de 3 a 4 semanas) con relación al tiempo necesario en un perro adulto (de 6 a 8 semanas). Se forma un gran callo, generalmente de base perióstica que inmoviliza rápidamente el foco fracturario. Esto permite un apoyo temprano del miembro, que, además, recibe menor carga mecánica debido al peso relativamente escaso de los cachorros. La reacción periostial abundante, permite que los fragmentos óseos incluidos en el hematoma inicial, se incluyan en el involucro del callo e intervengan también en la reparación de la fractura. (Wheeler, 2002) Cuadro 1.

La unión ósea, es decir la continuidad de la cortical de ambos extremos fracturados, se produce entre las 8 y 16 semanas, utilizando clavos intramedulares y placas. Con los clavos intramedulares cuando se observa unión clínica (que siempre precede a la unión ósea) y, cuando se observa unión ósea, el implante puede ser retirado. Con las placas de compresión no se observa unión clínica (porque no se forma callo) sino sólo unión ósea. A diferencia de los clavos intramedulares, no puede retirarse el implante. Con clavos intramedulares de

Steinmann únicos, a las cuatro semanas se suele observar un incremento de la separación de la línea de fractura y la formación de callo inmaduro. (Díaz, 1994)

Tiempos medios de unión clínica (Hohn y Rosen, 1984)		
<i>Edad del animal</i>	<i>Fijador externo tipo I y II Clavo intramedular</i>	Fijación con placa Fijador externo tipo III
<3 meses	2-3 semanas	4 semanas
3-6 meses	4-6 semanas	6-2 semanas
6-12 meses	5-8 semanas	12-16 semanas
>1 año	7-12 semanas	16-30 semanas

Cuadro 1. Tiempos de reparación y consolidación de fracturas. (Sopena Juncosa, 2010)

En la utilización de autoinjertos frescos y congelados se observa radiográficamente formación de callo óseo en la unión proximal a los 15 días y en aloinjertos congelados a los 22 días, siendo los aloinjertos frescos más tardía alrededor de 25 días. La consolidación global de los injertos es de 80,5% a las 8 semanas de evolución. El plasma rico en plaquetas ha supuesto un avance decisivo en la estimulación y aceleración de la consolidación de huesos y partes blandas. (Carrasco, 2009)

Existen tres importantes áreas condicionadas en la reparación de heridas; Ambiental (la herida debe ser estable cerrada, bien vascularizada y libre de infección), Celular (las células reparadoras deben ser capaces de migrar a los bordes de las heridas desde el tejido sano) y Bioquímica (donde los factores de crecimiento y otras citocinas deben estar presentes en concentración suficiente para estimular los mecanismos de reparación tisular. (Carrasco, 2009)

Sánchez y cols. utilizan la denominación del PRP en un estudio clínico sobre la reparación de fracturas de difícil consolidación. Los métodos de obtención de concentrado de plaquetas sin la adición de trombina consiguen la liberación paulatina de factores de crecimiento durante al menos 7 días. (Carrasco, 2009) No se encontraron reportes en la utilización de PRP como tratamiento coadyuvante en reparaciones de fracturas con diagnóstico de no unión en perros. (Dohan y col. 2008)

Fundamentos del fallo de osificación en perros

Falta de vascularización: En las razas toy el flujo sanguíneo es muy reducido en comparación con las razas de mayor tamaño. Por eso resulta más fácil dañarlo al resolver la fractura, lo que generaría una vascularización deficitaria y facilitaría la necrosis ósea. (Villar Estalote, 2019)

Falta de estabilidad: La estabilidad de la fractura depende directamente del sistema de fijación. Las fracturas transversas requieren una mayor estabilización y, además, suelen ser más frecuentes en perros de talla pequeña. Las fracturas conminutas aceptan una mayor estabilización, por lo que permiten menor grado de movimiento interfragmentario. (Villar Estalote, 2019)

Sobreprotección del hueso: En razas toy, el margen que existe entre la falta de estabilidad (falta de rigidez) y la sobreprotección (exceso de rigidez) es estrecho, y es difícil encontrar un equilibrio entre ambas situaciones. (Villar Estalote, 2019)

Otro problema con el que nos podemos enfrentar son las fracturas antiguas, podemos considerarlo como una fractura de más de siete días de evolución. (Villar Estalote, 2019)

Factores que afectan la reparación

- Huesos blandos con corticales relativamente delgadas.
- Mala aceptación de los implantes.
- Longitud y forma de la diáfisis variable.
- Deterioro del crecimiento óseo.
- Implantes atrapados por el crecimiento del nuevo hueso, lo que hace difícil retirarlos una vez consolidada la fractura.
- Callo exuberante con atrapamiento del tejido blando.
- Fibrosis muscular.

Los factores que pueden actuar de un modo negativo en la reparación de las fracturas en animales inmaduros son varios y dependen de las circunstancias. Es sabido que la cortical de los huesos de estos animales es más delgada que en los adultos, esto puede complicarnos en el momento de tener que escoger un implante (por ej.: tornillos). Además, otros factores que dificultan la elección de un implante son la gran variabilidad de formas y tamaños de las diáfisis de estos animales, factor que se hace menos evidente en las mismas razas cuando son adultos. En los animales inmaduros se han registrado algunos casos de mala aceptación de los implantes. Si bien no se ha observado este fenómeno con frecuencia, se pudo comprobar un índice mayor de infecciones iatrogénicas, factor que puede asociarse a un potencial inmunológico inferior o a una inmunodepresión por estrés. (Wheeler, 2002)

Tipos de unión ósea

Unión clínica: Estadio de la curación de una fractura en el que un implante puede ser extraído y el hueso permanece con el mismo alineamiento que antes de su extracción. (Díaz, 1994).

Unión retrasada: Situación en la que la consolidación se produce en un plazo de tiempo excesivamente prolongado. (Díaz, 1994) No se produce en el tiempo adecuado, si bien persiste una actividad osteogénica, su principal causa es la utilización de una fijación inadecuada que ocasiona mala reducción e inestabilidad. El diagnóstico se efectuará basándonos en las características radiológicas, entre las que destacaremos la presencia de una línea de fractura claramente visible y mínima, aunque presente, actividad osteogénica. (Sopena Juncosa, 2010)

La causa más común de de unión retardada es la fijación inadecuada o interrumpida de los segmentos de la fractura. En el examen radiográfico, la línea de fractura permanece evidente y tiene un aspecto plumoso o lanoso, y no hay esclerosis de los extremos óseos. Hay evidencia visible de actividad osteogénica (callo), pero es mínima y no llega a tender un puente sobre la línea de fractura. (Piermattei, 2007)

Al plantearnos el tratamiento es importante valorar el punto crítico que compromete la evolución adecuada de la fractura. De esta forma la decisión dependerá de diversos condicionantes. Si la fijación es adecuada hay que actuar favoreciendo el reposo y restringiendo el movimiento, por ejemplo, limitándolo a paseos cortos con correa. Si la fijación es insuficiente habrá que mejorarla o sustituirla, todo dependerá del estado de conservación clínico y mecánico de la fijación inicial. Si la reducción no es adecuada habrá que intervenir para corregirla. (Sopena Juncosa, 2010)

El tratamiento quirúrgico de las fracturas no consolidadas a menudo requiere el uso de materiales osteogénicos en la presencia de una adecuada estabilización para establecer una continuidad ósea. Cada vez se hace más necesaria la utilización de una serie de sustancias promotoras del crecimiento en las zonas donde el sistema musculoesquelético tiene una lesión. (Carrasco, 2009)

No unión:

Teniendo en cuenta la clasificación de Weber y Cech (1976) aunque antigua, es perfectamente válida y útil. (Cuadro 2) Propusieron dos tipos básicos de fracturas con no unión- viables y no viables- clasificadas según sus características biológicas, que continúan siendo el sistema más útil para el médico clínico. (Piermattei, 2007) Figura 1

Se refiere a la usencia de todo indicio de actividad osteogénica en el lugar de fractura. Este hecho permite el movimiento y no es posible la unión ósea sin intervención. Como principales causas podemos referir la inmovilización inadecuada, reducción incorrecta, infección, pérdida excesiva de hueso o alteración vascular. (Sopena Juncosa, 2010)

El retraso en la no unión es aquella situación en la que la consolidación se produce en un plazo de tiempo excesivamente prolongado. Entendemos como no unión aquella situación en la que el proceso de curación está completamente parado y existe un tejido fibroso que separa los dos fragmentos del hueso. (Diaz, 1994)

Mala unión: Son fracturas consolidadas en las que no se ha alcanzado el alineamiento óseo anatómico en el momento de la reducción o se perdió durante el proceso de cicatrización.

No unión Viables: Biológicamente activas, con presencia de reacción ósea proliferativa y presencia de tejido fibroso y cartílago en el foco de fractura que impide la unión. A su vez podemos diferenciar en hipertróficas, moderadamente hipertróficas y oligotróficas.

No unión No viable: Sin actividad biológica, es decir sin signos de reacción ósea en la zona de fractura y con esclerosis evidente. Distinguimos, distróficas, necróticas, por defecto y atróficas.

Caracterización radiográfica de fallos en la osificación	
Tipo	Cambios radiográficos
Consolidación retardada	Evidencia de regresión de la curación.
	No unión
No unión viable	En general, la línea se mantiene en el lugar de la fractura (tejido fibroso y cartílago con un callo puente ineficaz).
Hipertrófica	Exuberante callo se extiende desde el margen cortical, pero no cierra la fractura; se hace referencia a los pies como de un elefante.
Moderadamente Hipertrófica	Tiene menos callo que la hipertrófica; se refiere a la forma como pie de caballo.
Oligotrófica	Sin evidencia radiográfica de la actividad, por lo tanto, ningún callo, redondeo de los bordes de fractura y reabsorción. Fragmentos externos del hueso se mantienen una apariencia nublada.
	No unión no viable
Distrófica	Fractura no viable que a menudo aparece esclerótica (mayor opacidad mineral del hueso cortical), con cierre de la cavidad medular, el callo óseo puede ser evidente, pero deja a la fractura intacta.
Necrótica	A menudo hay translucidez y pérdida ósea asociada con los implantes; puede haber fistula o secuestro.
Defectuosa	Se produce cuando en lugar de la fractura se llena de tejido fibroso y /o músculo, que aparece radiográficamente como una zona radiotransparente.
Atrófica	Se caracteriza por la pérdida de hueso en el lugar de la fractura, a meno por la reabsorción. Los extremos de los huesos aparecen escleróticos y redondeados, y se alejan del lugar de la fractura.
Mala unión	La fractura puede aparecer resuelta o tener un gran callo puente consistente en progresión hacia la curación a través de cicatrización ósea secundaria.

Cuadro 2. Clasificación de Weber y Cech. (Villar Estalote, 2019)

El tratamiento conlleva siempre la intervención quirúrgica. En el caso de no uniones viables valoraremos la calidad de la fijación inicial. Si la reducción es correcta se debe aumentar la estabilidad sin alterar el callo formado. Si no es correcta hay que abrir el callo formado y el canal medular de los fragmentos y establecer una fijación y reducción adecuadas. Ante una no unión no viable inevitablemente hay que abordar la zona de fractura, retirar el hueso esclerótico y reavivar el canal medular. La posterior aplicación de un sistema de fijación adecuado complementará el tratamiento que no resulta muy agresivo. Actualmente se están valorando diferentes tratamientos entre los que podemos destacar la utilización de proteínas morfogénicas o factores de crecimiento. (Sopena Juncosa, 2010)

Algunos autores mencionan que brindar una estabilización ósea eficiente en una no unión facilita que los fragmentos contacten entre sí de manera adecuada y es un punto clave la fijación por medio de placa ortopédica, la cual contribuye positivamente a la consolidación ósea en el paciente. (Mendoza Ramírez, 2015)

La aplicación de las proteínas liberadas a partir de las plaquetas es especialmente importante en condiciones patológicas como la curación de fracturas comprometidas como consecuencia de un ambiente biológico inadecuado con concentraciones muy reducidas. El uso de injerto óseo enriquecido con PRP autólogo en fracturas de tibia y fémur de difícil consolidación consiguen la formación de unión sólida en un 91,7% de los pacientes en 32 semanas. (Carrasco, 2009)

El tratamiento depende del grado de funcionalidad de la extremidad y la valoración de su evolución. Los reportes en medicina veterinaria son escasos y el área donde más uso se ha dado es en medicina equina, utilizando el plasma rico en plaquetas en patología de tendones y articulaciones, donde los estudios revelan ventajas comparativas en términos de recuperación de la movilidad, disminución del dolor y mejoría clínica de la claudicación, entre otros. (Faúndez, 2010)

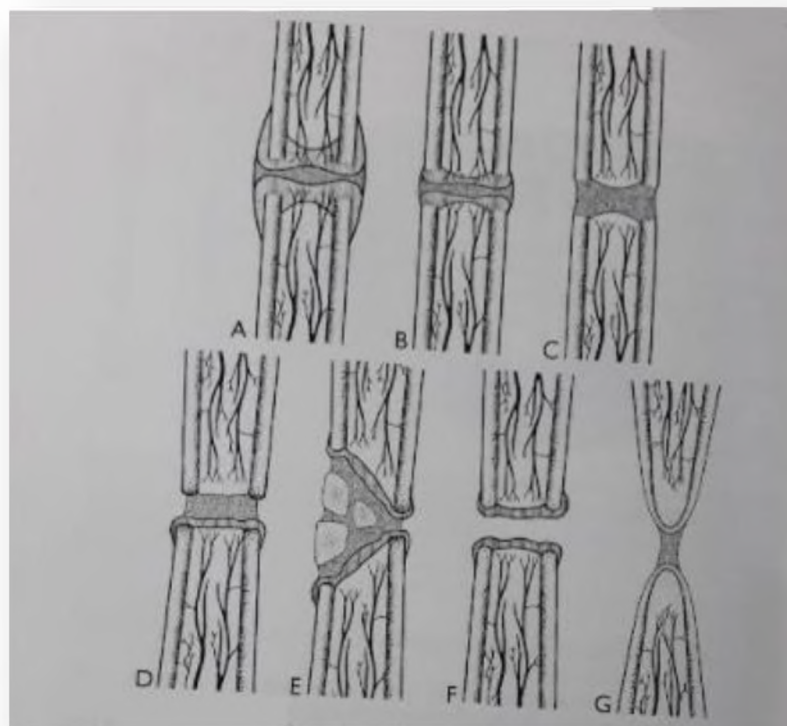


Figura 1: Clasificación de fracturas con no unión, de acuerdo con Weber y Cech. **A** hasta **C**, No uniones viables, o biológicamente activas. **A**, Hipertrófica; callo de pata de elefante. **B**, Hipertrófica moderada; callo pata de caballo. **C**, Oligotrófica; callo mínimo o ausente. **D** hasta **G**, No uniones no viables o biológicamente inactivas. **D**, Distrófica; uno o ambos lados de la línea de fractura están vascularizados en forma deficiente. **E**, Necrótica; quedan fragmentos óseos desvascularizados (secuestros) en la brecha de la fractura. **F**, Defecto; faltan fragmentos óseos de la brecha de la fractura. **G**, Atrófica; resorción y redondeo de los extremos óseos y cesación completa de la actividad osteogénica. (Piermattei, 2007) Citado en el libro Pseudoarthrosis: pathology, biomechanics, therapy, results.

OBJETIVOS

1. Utilizar una nueva técnica de aplicación de Plasma Rico en Plaquetas como alternativa terapéutica para disminuir el tiempo de recuperación después de traumatismos que impliquen fracturas.
2. Evaluar el efecto de la inyección de plasma rico en factores de crecimiento intralesional en fracturas con no unión.

MATERIALES Y MÉTODO

El caso clínico se presentó en la Clínica Veterinaria “Mundo Veterinario” de la ciudad de Resistencia, Chaco, en el mes de noviembre de 2019. La paciente de nombre Mini, canino de raza mestiza, hembra entera de 8 meses de edad, junto a sus propietarios, llegaron a la consulta porque la paciente presentaba una lesión de piel en la región de la tibia del miembro posterior izquierdo y una fractura expuesta en el miembro posterior derecho con exposición de una porción de hueso en la región tibial.

La paciente había sido sometida a cirugía anteriormente (45 días) por presentar fractura en dicho miembro (figura 2) producto de un accidente de tránsito, habiéndose realizado la fijación por medio de tutor externo y clavo intramedular en la pierna afectada.



Figura 2: Placa radiográfica de las extremidades posteriores de la paciente antes del primer acto quirúrgico para la osteosíntesis de los cabos fracturarios.

Al momento de la consulta el animal se encontraba con una no unión de los cabos fracturarios (anteriormente reestablecidos) en el tiempo esperado para la consolidación de la fractura; además se visualizó en la placa radiográfica de control (figura 3) que el tutor

intramedular se encontraba con una angulación marcada. En dicha placa, se puede observar un leve proceso de formación de callo óseo en el lugar de la fractura teniendo en cuenta el tiempo transcurrido, el cual era deficiente. (Figura 4).



Figura 3 y 4: Se evidencia, luego de 45 días de la cirugía reparadora, como el clavo intramedular se encuentra curvado. Asimismo, se observa escasa osteogénesis teniendo en cuenta el proceso de reparación normal del hueso.

La razón por la cual se produjo la disposición del tutor interno más el proceso escaso de consolidación de los cabos fracturarios, dando como resultado el retardo del proceso de cicatrización ósea, fue incierta; puesto que la paciente no presenta enfermedades de base ni procesos de infección generalizada. Tampoco se observó infección en el lugar de fractura.

Los propietarios manifestaron que no hubo fuerzas externas que provocaran tal cuadro, como ser accidentes domésticos, enfrentamiento con otros animales, saltos o choque vehicular.

La paciente fue seleccionada en base a la evidencia radiográfica de **no unión** en las fracturas, debido al tiempo transcurrido desde la reparación inicial fue superior a los tiempos habituales de reparación y consolidación ósea, así como la escasa formación de callo óseo y unión de los fragmentos, además de la exclusión de otras patologías sistémicas o metabólicas.

El proceso de la nueva reparación ósea junto al uso de plasma rico en plaquetas, se llevó a cabo el 12 de noviembre de 2019, donde la paciente presentaba un peso de 12,700 kg. (figura 5 A), los parámetros fisiológicos se encontraban dentro de los normales, además se tomó muestra sanguínea días previos para obtener datos de laboratorio pre quirúrgicos como así también recuento plaquetario para establecer la cantidad de plaqueta que presentaba el canino previo al acto quirúrgico, dando como resultado $90 \times 10^9/L$ de plaquetas. (Figuras 5 B y C)

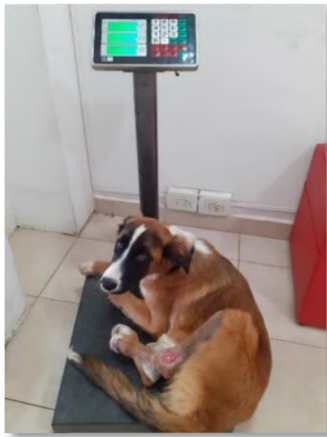


Figura 5 A-B v C: Paciente en balanza determinando el peso para la administración de anestésicos y fármacos necesarios en el proceso. Se puede observar además la toma de muestra sanguínea y los resultados de laboratorio prequirúrgico.

El procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas se produce antes de la cirugía, tomando sangre mediante venopunción de la vena cefálica (figura 6), mantenida y transportada por tubos vacutainer con citrato de sodio 3,8% P/V, obtenida aproximadamente 30 minutos antes de ser requerida en el acto quirúrgico (figura 7). En todo el proceso se realizaron medidas de asepsia necesarias tanto para la obtención, procesamiento y utilización de la muestra, material y equipo empleados en el proceso, bajo los protocolos de manejo de residuos patológicos.

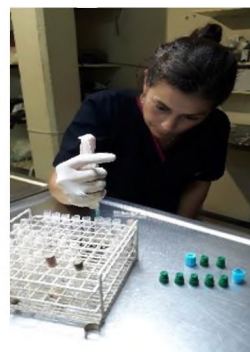
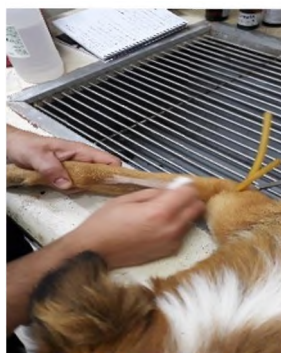


Figura 6: Preparación para la toma de muestra. **Figura 7:** Descarga de la sangre en tubos vacutainer.

Las muestras recolectadas en solución de citrato de sodio al 3,8%, se diluyen en un 10%. (Meyer, 2000). Estas proporciones equivalen a una relación de 0,1 ml. de citrato de Na por cada ml. de sangre obtenida. En el caso de Mini, se obtuvo 12 ml. de sangre total, los cuales dentro del tubo fueron mezclados con 1,2 ml. de citrato totales; distribuidos en 3 tubos, cada uno de ellos con 4ml. de sangre y 0.4 ml. de citrato.

Estos fueron llevados a una centrifuga, teniendo en cuenta las diferentes opciones de centrifugación por los distintos autores, se llegó a la conclusión que se necesita a menor

revolución mas tiempo, es decir, en nuestro caso contábamos con una centrifuga de 1000 r.p.m. la cual dejamos actuar por 9 minutos. (figura 8)

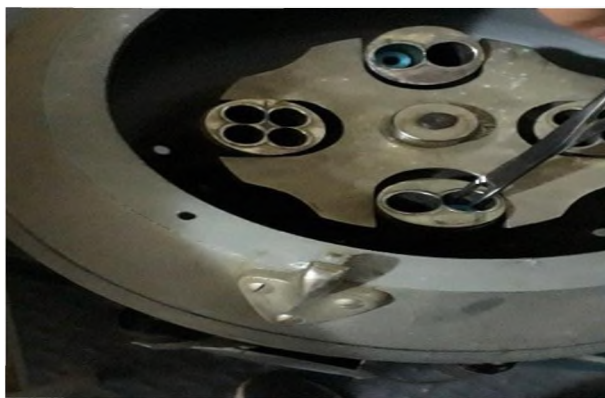


Figura 8: Colocación de tubos vacutainer en centrifuga.

Se obtuvo de cada contenedor, luego del proceso de centrifugación, un total de 6 ml. de plasma rico en plaquetas, aspirando cuidadosamente con jeringa estéril de 10 ml. y aguja estéril 40/8 la porción rica en plaquetas, la cual se encuentra en el medio de la porción blanca del centrifugado, siendo la porción superior e inferior (próximo a la porción de células de la serie roja) la parte pobre en plaquetas. (figura 9)



Figura 9: Componentes del centrifugado sanguíneo dentro del tubo con anticoagulante.

Una vez obtenida la porción rica en plaquetas, se procede a calcular lo que requeriremos de cloruro de calcio, el cual deberá ser administrado en una proporción de 0,05 ml. por cada ml de plasma colectado. En nuestro procedimiento se recolectó 6 ml. de plasma rico en plaquetas. Se calculan las proporciones dando como resultado para esa cantidad de plasma un total de 0,3ml. de cloruro de calcio. (figura 10). La función de este producto es activar los factores de crecimiento que se encuentran en el ultrafiltrado.

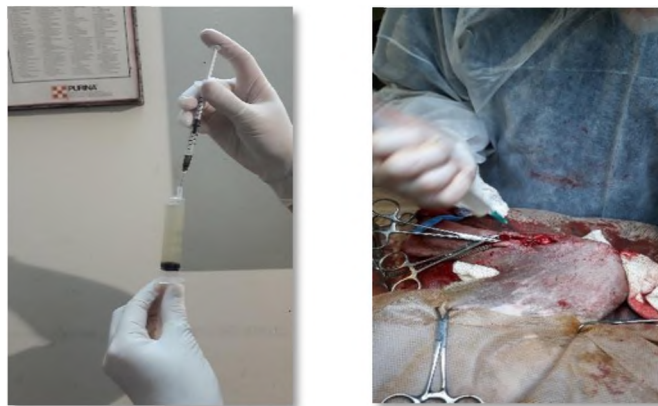
Se recomienda no añadir el cloruro de calcio hasta 10 minutos antes de la aplicación. No obstante, se pueden acortar los plazos con baño térmico a 37°C. (Loera Torres, 2014)

Previo al acto quirúrgico se procedió con la colocación de fluidoterapia, la toilette de las heridas, afeitado de las zonas y desinfección de las áreas lesionadas. La premedicación fue realizada con acepromacina al 10% (a dosis de 0,1mg/kg), midazolam 5% (dosis de 0,3

mg/kg) y ketamina 100mg (dosis de 5mg/kg). Se procede a intubar al paciente y se lo lleva al quirófano, allí se realizó la preparación y embrocación de la zona a proceder quirúrgicamente, siendo mantenida con anestesia inhalatoria y monitoreada durante el proceso.

La paciente se encontraba monitoreada y controlada, se colocó fluido analgésico FLK (fentanilo, lidocaína y ketamina) a un ritmo de infusión de 3ml/kg/hs. Además de analgésicos y antibióticos.

Una vez retirado el tutor externo y clavo intramedular, se procedió a la colocación nuevamente de un tutor externo y clavo intramedular de mayor calibre. Una vez fijado los cabos fracturarios, y antes de cerrar la incisión, se procede a la colocación del plasma rico en plaquetas activado previamente (10 minutos) en el área de la fractura de no unión, de forma intralesional. Este proceso se realiza en los dos miembros posteriores, puesto que ambos presentaban no unión y proceso de osteosíntesis retardada. (figura 11)



Figuras 10 y 11: Aquí se puede observar el proceso de activación de plasma rico en plaquetas con cloruro de calcio. En la siguiente figura se observa la colocación de forma intralesional del plasma activado.

Luego del procedimiento, la paciente se despertó de forma rápida y sin dolor, se procedió a realizar un vendaje para proteger el área quirúrgica.

Se realiza las curaciones diarias con yodo povidona luego del procedimiento más la administración de analgésicos (Meloxicam 0.2 mg/kg) y antibióticos (Ceftriaxona 30 mg/kg). Se recomienda volver a control en 20 días para evaluar el proceso de reparación.

RESULTADOS

El resultado de la intervención fue satisfactorio, la paciente al recuperarse de la anestesia no manifestó signos de dolor y el despertar fue casi inmediato.

A las 12 hs. aproximadamente de realizado el procedimiento, se observó mejoría clínica, logrando tomar agua y alimentarse normalmente. El canino permaneció bajo control en la clínica veterinaria durante 3 días, en los cuales se realizó control de la herida, toilette y administración de la medicación, además, se realizó vendaje en ambos miembros posteriores. A pesar de permanecer en reposo, Mini intentaba posicionarse en estación, por lo cual se recomendó a los propietarios permanecer al menos dos semanas más en reposo en su hogar, indicándole los cuidados pertinentes.

El control post quirúrgico se realizó a los siete días, se observó una notable mejoría, aumento de peso; según remiten los propietarios, a los pocos días de la intervención luego del reposo sugerido, la paciente estaba movilizándose en forma correcta y sin dolor. Se procedió a tomar una placa radiográfica, la cual verifica que el proceso de osteogénesis, se encontraba avanzado, con formación del callo óseo de forma normal durante el proceso de reparación ósea, comparándose con las placas anteriores (antes del procedimiento quirúrgico), no se observaba una reparación ósea ni formación de callo óseo normal en las fracturas de ambos miembros lesionados. A los 15 días, tras el análisis y seguimiento radiográfico de la resolución de las fracturas de los huesos tibiales, sumado al uso de plasma rico en plaquetas, respondieron con una rápida rehabilitación, acelerando el proceso de resolución de la fractura y permitiendo una rápida mejoría de la funcionalidad. (Figura 12 y 13)

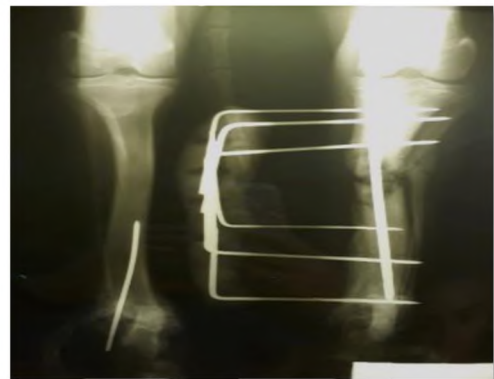


Figura 12 y 13: Aquí se observa el proceso de reparación ósea de manera correcta, en un tiempo menor al que de manera normal se produce.

DISCUSIÓN

Todos los estudios realizados acerca de la eficacia de los tratamientos con plasma rico en factores de crecimiento, coinciden en que se acortan los tiempos de tratamiento y de regeneración celular. Ésta es la principal diferencia con respecto a las técnicas clásicas. (Gómez Martín, 2006). La ventaja que sea obtenida del propio paciente minimiza el riesgo de efectos adversos, elimina la posibilidad de transmisión de enfermedades, y disminuye los costos de obtención. (Carrillo Mora, 2013)

Loera Torres (2014), cita que la sencillez en la aplicación y obtención del preparado, debe llevarse acabo de acuerdo a protocolos estandarizados y diseñados por diferentes autores y laboratorios. Respecto a esto, se fue ajustando la técnica, logando así un tiempo de procesamiento y revoluciones por minuto adecuadas para lograr el resultado esperado de la obtención de plasma rico en plaquetas, para luego ser activado previa colocación en el lugar a tratar. Este proceso se adecuó a los materiales con los que contábamos (la centrifuga trabajaba a una velocidad que iba de 1000 en 1000 r.p.m.)

Según Carrasco, (2009), hay autores que consideran que el PRP se consigue mediante una sola centrifugación, en nuestro procedimiento se logró con una sola centrifugación de sangre entera a 1000 r.p.m, logrando resultados favorables. El presente trabajo logró los objetivos propuestos, el efecto del plasma intralesional en la fractura que presentó retraso en la osteosíntesis, fue satisfactorio. Se redujo el tiempo de reparación con el PRP homólogo, sin complicaciones respecto al rechazo del plasma ni infecciones, logrando una reparación rápida y cicatrización de herida óptimos.

Teniendo en cuenta lo mencionado por Mendoza Ramírez, (2015), donde dice que la mayoría de los autores consideran que la activación previa no es necesaria,(porque esta se produce in situ), pero cuando se utiliza el PRP normalmente se realiza alguna activación en el lugar aplicado, dándole una consistencia gelatinosa facilitando su uso quirúrgico, con nuestro trabajo logramos afirmar lo dicho, a pesar de aplicar en forma líquida con jeringa estéril el plasma activado en la zona de la lesión (no gelificado), logramos el mismo resultado.

La regeneración del tejido óseo ha potenciado el incremento de sustitutos y materiales de implante. Anitua ha demostrado incremento y aceleración en la regeneración ósea y una cicatrización más rápida y predecible de los tejidos con el uso de plasma rico en plaquetas. (Loera Torres, 2014)

En el estudio realizado se tomaron cantidades de sangre diferentes (6ml) respecto a las aconsejadas por los diferentes autores citados, situación similar fue descripta por Loera Torres (2014), el cual utilizó cantidades sanguíneas pequeñas (400 y 500 ml), logrando los mismos resultados.

Se logró la separación de los distintos componentes de la sangre con una centrifugación de 1000 r.p.m. durante 9 minutos. Coincidente con lo mencionado por Carrillo Mora, (2013) el cual sostiene que, no hay acuerdo en cuanto a velocidad y tiempo de centrifugación, en el procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas.

Mediante monitoreo clínico y estudios radiológicos se confirmó que la evolución del paciente sometido al acto quirúrgico complementado con la técnica de Plasma Rico en Plaquetas determino una notable disminución del tiempo en la consolidación ósea, situación similar

descrita por Mendoza Ramírez, (2015) quien además aconseja la utilización de dicha técnica en No unión de fracturas no complicadas similar al caso en estudio.

CONCLUSION

Se concluye que la aplicación de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) con factores de crecimiento, administradas por infiltración intralesional en caninos, favorece la osteogénesis en el proceso de la regeneración ósea en fracturas de no unión. Por lo tanto, la inclusión de este método puede considerarse eficaz y complementario al tratamiento habitual, lográndose una recuperación rápida y disminución del tiempo de consolidación ósea.

Sería conveniente continuar con el estudio de la técnica en diferentes tipos de fracturas para comparar resultados y obtener mayores datos, que permitan descubrir un panorama más completo respecto a este tema.

BIBLIOGRAFIA

- Beca, T.; Hernández, G.; Morante, S.; Bascones, A. (2007). Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. *Revista AVANCES en periodoncia*. Vol. 19. N°1: 38-52.
- Carrasco, J.; Bonete, D.; Gomar, F. (2009). Plasma rico en plaquetas vs. Plasma rico en factores de crecimiento. *Revista española de cirugía osteoarticular*. Vol. 46. N°239:127-137.
- Carrillo Mora, P.; González Villalva, A.; Macías Hernández, S.; Pineda Villaseñor, C. (2013). Plasma rico en plaquetas. Herramienta versátil de la medicina regenerativa? *Revista Cirugía y cirujanos*. Vol.81. N°1:74-82.
- Chicharro Alcántara, D.; Rubio Zaragoza, M.; Damiá Giménez, E.; Carrillo Poveda, J.; y Col. (2018). Plasma rico en plaquetas: Nuevas perspectivas para el manejo de la cicatrización de heridas cutáneas. *Jornal of Functional Biomaterials*. Disponible en: <https://es.slideshare.net/edwin140260/plasma-rico-en-plaquetas-nuevas-perspectivas-para-el-manejo-de-la-cicatrizacion-de-heridas-cutaneas>
- Díaz, M.; Durall, I. (1994). Introducción a la traumatología y ortopedia. Parte I: consolidación de las fracturas y semiología radiológica. Vol.14. N°2:80-90.
- Dohan David, M. y col. Clasificación de los concentrados de plaquetas: desde plasma rico en plaquetas (P-PRP) hasta fibrina rica en leucocitos y plaquetas (L-PRF). *Trends in Biotechnology* 2008; 27,3.
- Faúndez, R. (2010). Plasma rico en plaquetas (PRP) y su uso en cirugía veterinaria. *Revista Hospitales Veterinarios*. Vol. 2. N°2:2-6.
- García, R.; Quintero, C.; Pillido, C. (2014). Reparación de Fractura Cubito-Radial en Canino. *Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias*. Vol. 6. N°2:24-29.
- Gómez Martín, B.; Becerro de Bengoa Vallejo, R.; Losa Iglesias, M.; Sánchez Gómez, R. (2006). Plasma rico en factores de crecimiento (PRFC). *Revista internacional de Ciencias Podológicas*. Vol.1, N°1: 7-10.
- Loera Torres, L. (2014). Eficacia de la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento por infiltración intralesional en la reducción cerrada de fracturas (en tibia de conejos). *Revista Sanidad Militar México*. Vol.68. N°5:264-271
- Mendieta Archundia, R.; Y Cols. (2007). Utilidad del plasma rico en plaquetas y factores de crecimiento en defectos óseos, experiencia en el Hospital Regional. *Acta Ortopédica Mexicana*. Vol.21. N°5:256-260.
- Mendoza Ramírez, J.; Reyes, A.; Quijano Hernández, A.;(2015). Utilización de plasma rico en plaquetas como tratamiento coadyuvante en la no unión de olécranon en un perro: reporte de caso. Seminario de residentes de la especialidad en medicina y cirugía en perros y gatos. Pág. 65-69. Disponible en: <http://veterinaria.uaemex.mx/HVPE/index.php>
- Meyer, D.; Harvey, J. (2000). Evaluación de la hemostasia: anomalías de la coagulación y las plaquetas. El laboratorio en medicina veterinaria. Segunda Edición. Editorial Intermedica. Buenos Aires. Argentina. Pág.119-146.

Moreno, R.; Gaspar Carreño, M.; Y Col. (2015). Técnicas de obtención del plasma rico en plaquetas y su empleo en terapéutica osteoinductora. *Revista Farmacia Hospitalaria*. Vol.39. N°3:130-136

Moreno, R.; Gaspar Carreño, M.; Jimenez Torrez, J.; Alonso Herreros, J.M.; Villmar, A.; López Sánchez, P. (2015). Técnicas de obtención de plasma rico en plaquetas y su empleo en terapéutica osteoinductora. *Farmacia Hospitalaria*. Vol.39. N° 3. Pág.130-136.

Muñoz Rascón, P.; Morgáz Rodríguez, j.; Galán Rodríguez, A.; Meza Sánchez, I.; Mengual Riera, C. (2015). Alteraciones del hemograma de la coagulación. *Manuela Clínico del Perro y el Gato*. 2º edición. Capítulo 5. Pág. 41. Editorial Elsevier-Barcelona, España.

Piermattei, S. L.; Flo, G. L.; DeCamp, C. (2007) Manual de ortopedia y reparación de fracturas en pequeños animales. Cuarta edición. Editorial Intermedica. Buenos Aires. Pág. 172-182.

Saluzzi, C.; Pombo, M.; Larrabe, L. (2007). Plasma rico en plaquetas en cirugía ortopédica y traumatológica. *Revista de artroscopia*. Vol.14. N°2:145-151. Publicación virtual <https://revistaartroscopia.com>

Sopena Juncosa, J.; Carrillo Poveda, J.; Rubio Zaragoza, M.; y col. (2010) Manejo básico y principios del tratamiento de fracturas contiguas. En portada: solución de fracturas complicadas. Pág. 2-4. Disponible en www.traumatologiaveterinaria.com

Villar Estalote, J.; Otero Queijas, N. (2019). Resolución de complicaciones en fracturas radiocubitales de perros de raza toy. Portal Veterinaria. Recuperado de: <https://servicios.portalveterinaria.com/openx/www/delivery/ck.php?n=ad30f4fe&cb=683447152>

Weber, B. G.; Cech, C.a.; (1976). Pseudoarthrosis: pathology, biomechanics, therapy, results. Bern. Hans Huber Medical Publisher.

Wheeler, J. T.; Adagio, L.; D'Amico, G.; Hierro, J.; Hagge, M.; Lattanzi, D.; Schieda, F.; Sanfilippo, S.; (2002). Fracturas de los huesos largos en caninos inmaduros. *Revista Ciencia Veterinaria*. Facultad de Ciencias Veterinarias. U.N.L.Pam. Pág. 57-67.